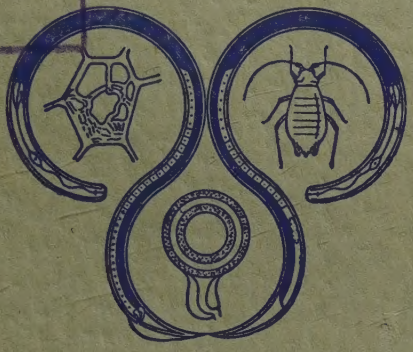
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

E+A

COMMONWEALTH INST. OF ENTOMOLOGY LIBRARY
25 DEC 1958
SERIAL Eu. 86
SEPARATE

JAARGANG 64 - 1958

4e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr. H. H. EVENHUIS;
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS; Prof. Dr. A. J. P. OORT; Mej. F. QUAK;
en Dr. J. P. H. VAN DER WANT (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Phytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester.* Postrekening no. 923165 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mej. F. Quak, Binnenhaven 4a, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Dr. Ir. C. Mastenbroek, Hoofddorp
Prof. Dr. A. J. P. Oort, Wageningen
P. Smeding, Leeuwarden
W. Tuin, Zuidwolde

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8.50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 10,—, België f 10,—. Buitenland f 13,50 Betalingen op postrekening 923165 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN Blz.

J. DE TEMPE – Infectie van lijnzaad met *Botrytis* – Waardering en bestrijding. *With a summary:* Botrytis *infection of flax seed – Evaluation and control* 281

A. P. KOLE en LOUIS HSU WEI TCHONG – Een methode voor vergelijkend onderzoek van de integrale werking en de dampwerking van droge en natte zaadontsmettingsmiddelen. *With a summary: A method for testing the integral and the vapour action of seed-dressing dusts and steeps* 297

H. M. TH. VAN TURNHOUT en P. A. VAN DER LAAN – Control of *Lygus campestris* on carrot seed crops in North Holland. *Met een samenvatting: De bestrijding van* Lygus campestris *in zaadwortelen in Noordholland* 301

O. M. VAN ANDEL – Investigations on plant chemotherapy. II. Influence of amino acids on the relation plant-pathogen. *Met een samenvatting: Onderzoekingen op het gebied van de chemotherapie. II. Invloed van aminozuren op de relatie plant-pathogeen* 307

H. H. EVENHUIS – Over de invloed van de winter op de parasitering van de appelbloedluis, *Eriosoma lanigerum*, door haar parasiet *Aphelinus mali. With a summary: The influence of the winter on the parasitism of the woolly aphid,* Eriosoma lanigerum, *by its parasite* Aphelinus mali 328

(Vervolg op pag. 3 omslag)

T. Pl.ziekten 64 (1958): 281–296

INFECTIE VAN LIJNZAAD MET *BOTRYTIS* WAARDERING EN BESTRIJDING[1])

With a summary: Botrytis *infection of flax seed – Evaluation and control*

DOOR

J. DE TEMPE

Rijksproefstation voor Zaadcontrôle, Wageningen

INLEIDING

Nederland is een der weinige landen, waar de infectie van lijnzaad door *Botrytis cinerea* PERS. ex FR. soms ernstige proporties aanneemt. Elders komt deze schimmel wel in vlas voor, maar veroorzaakt zelden grote schade (COLHOUN, 1944; MACKIE 1940; VAN DER SPEK, 1956). *Botrytis cinerea* is over het algemeen geen uitgesproken parasiet; ook bij vlas veroorzaakt hij vooral schade in het jeugdstadium en in het afrijpingsstadium, doch minder in het krachtig groeiende gewas (fig. 1)[2]). Voor de schade in het jeugdstadium wordt de zaadinfectie verantwoordelijk gesteld (VAN DER SPEK, 1956). Daar de schimmel overal voorkomt is het onwaarschijnlijk, dat de in het gezaaide zaad aanwezige infectie van invloed is op zijn optreden in het afstervende gewas.

De zaadinfectie doet kiemplanten voor en na het opkomen verdwijnen. Na opkomst van de plantjes kan *Botrytis* onder daarvoor gunstige omstandigheden sterk om zich heen grijpen, zodat een enkel geïnfecteerd zaad een aantal plantjes verloren kan doen gaan, waardoor een opvallende lacune in de rij ontstaat. Op de stengeltjes van de omgevallen plantjes en later bij het wegsmeulen ook op de kiemlobben ziet men de sporendragers van de schimmel.

Sinds vele jaren wordt in het Rijksproefstation voor Zaadcontrôle (R.P.v.Z.) te Wageningen het *Botrytis*-percentage in zaailijnzaad bepaald. In de loop der jaren zijn talrijke proeven genomen, zowel om het verband vast te stellen tussen zaadinfectie en schade te velde als over de bestrijding der ziekte. De sterke *Botrytis*-infectie in vele monsters van de oogst 1957 was aanleiding deze punten opnieuw in studie te nemen.

METHODIEK

De in het R.P.v.Z. voor lijnzaadmonsters gebruikelijke methode van onderzoek is de filtreerpapier-methode. Daarbij worden de zaden ruim uitgelegd op vochtig filtreerpapier. Na zes dagen bij 20 °C in een vochtige, donkere kiemkast wordt op de infectie gecontroleerd. De ziektesymptomen kunnen nogal verschillen, zodat voor het verkrijgen van betrouwbare resultaten ervaring vereist is. Dit is de „vochtige kamermethode", geschikt gemaakt voor kwantitatief onderzoek.

Een ander diagnostisch principe in de fytopathologie is het uitleggen van plantedelen op steriele agarbodem, gevolgd door determinatie der na enkele dagen uitgegroeide schimmelkolonies. Op deze wijze worden voor lijnzaad hogere infectiepercentages gevonden dan met de filtreerpapier-methode. Voor

[1]) Aangenomen voor publikatie 21 juli 1958.

[2]) Fig. 1 zie pag. 294.

Botrytis in lijnzaad liggen ze ongeveer een derde hoger. Het staat niet vast, welke van beide methoden het best bij de praktijk aansluitende resultaten geeft. In feite hebben wij in het R.P.v.Z. geen keus, want de agarmethode blijkt daar onbruikbaar door het veelvuldig storend optreden van infecties met snelgroeiende schimmels uit de lucht. Ondanks velerlei hulpmiddelen is het niet gelukt die te onderdrukken.

De filtreerpapier-methode blijkt overigens zeer bruikbaar. Dat men de kiemplanten tijdens hun ontwikkeling kan waarnemen, heeft bij onderzoek naar een kiemplantziekte voordelen. Ook geeft gezondheidsonderzoek in filtreerpapiermilieu behalve het infectiepercentage een kiemingspercentage. Indien schimmels aanwezig zijn, die in het kiemplantstadium abnormaliteit kunnen veroorzaken, kan dit kiemingspercentage opgevat worden als een correctie op de „officiële" kiemkracht. De laatste wordt immers bepaald onder vroegtijdige verwijdering van kiemen, waardoor eventuele infecties niet tot hun recht komen.

De filtreerpapier-methode kan worden aangevuld met kas- en veldproeven. De kasproeven worden genomen direct in het tablet, in niet-gesteriliseerde en voor lijnzaad lichte grond (lemig zand). De temperatuur moet liefst omstreeks 15 °C zijn. Daar stugheid van de grond in de kasproef geen vermindering van opkomst geeft, kan men bij afwezigheid van ziekte opkomstpercentages van 90 of hoger verwachten. De matige temperatuur en gelijkmatige vochtigheid in de kasproef geven *Botrytis* een goede gelegenheid tot ontwikkeling. Bij sterke infectie van het zaad kan daardoor het aantal plantjes binnen enkele weken na opkomst zeer sterk worden gereduceerd als gevolg van uitbreiding der schimmel in de rijen.

De veldproeven worden met bekende aantallen zaden genomen op zware kleigrond naast het R.P.v.Z., in rijen van 3 meter lengte met 500 zaden per rij. De stugge grond beperkt de opkomst sterk, waardoor onder overigens gunstige omstandigheden een standpercentage van 70 (ten opzichte van het aantal uitgezaaide zaden) zelden wordt overschreden. Bovendien worden daardoor zieke kiemplantjes merendeels al voor opkomst uitgeschakeld, zodat van de infectie weinig te zien komt en het pathogeen weinig gelegenheid heeft zich in het jonge gewas uit te breiden. Daardoor is in deze proeven de invloed van bewust gevariëerde factoren (b.v. het infectiepercentage van het zaaizaad of het gebruik van verschillende fungiciden) beperkt. De invloed van de infectie kan slechts worden bestudeerd door het aantal planten per rij te tellen, wat normaliter gebeurde omstreeks twee maanden na uitzaai. Verschillen zijn vaak onbetrouwbaar vanwege de grote proeffout.

DE ZAADINFECTIE IN VERSCHILLENDE JAREN

Tabel 1 geett de gemiddelde *Botrytis*-infectie, in het R.P.v.Z. gevonden, voor de export-lijnzaadmonsters in een aantal jaren.

Fig. 2 geeft voor deze oogstjaren het verband tussen infectiepercentage en aantal monsters (omgerekend op 100).

Geen der andere lijnzaadpathogenen komt met een dergelijke frequentie in Nederlands lijnzaad voor. Vandaar dat de *Botrytis*-infectie sinds vele jaren de aandacht heeft gehad.

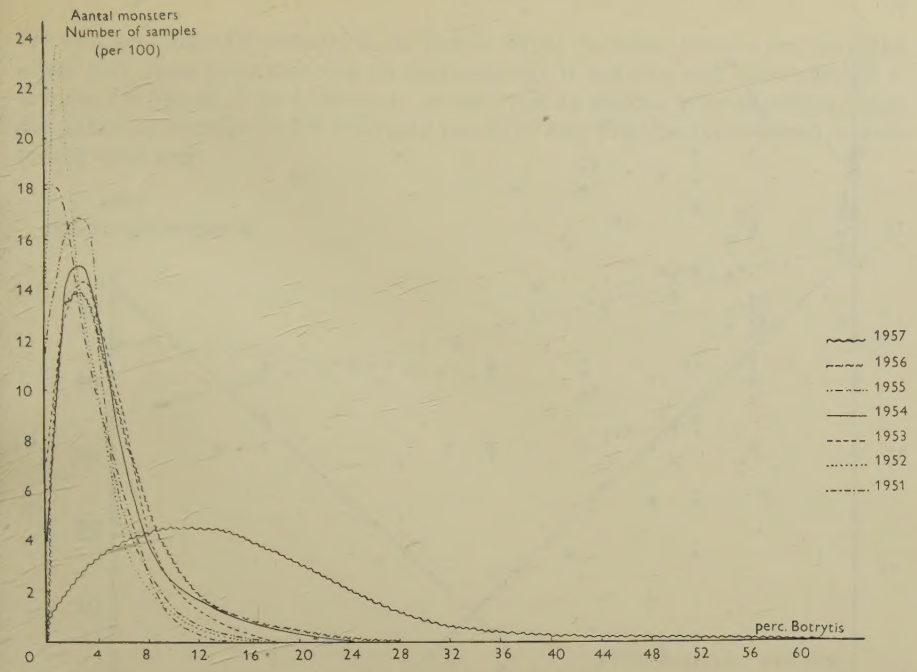


FIG. 2. Infectie van Nederlands lijnzaad met *Botrytis* in verschillende jaren, bepaald volgens de filtreerpapiermethode.
Botrytis *infection in Dutch flax seed in different years; blotter test, examined after six days at 20°C in darkness.*

TABEL 1. Infectie van Nederlands lijnzaad met *Botrytis* in verschillende jaren, bepaald volgens de filtreerpapier-methode.
Botrytis *infection in Dutch flax seed in different years; blotter test, examined after 6 days at 20°C in darkness*).

Oogstjaar *Year of harvest*	Aantal monsters *Number of samples*	Gemiddeld ziektepercentage *Mean percentage of infection*
1951	1122	3,1
1952	1336	5,1
1953	1716	4,4
1954	1737	5,1
1955	1574	3,8
1956	1363	4.9
1957	794	14,4

DE INVLOED DER ZAADINFECTIE

Reeds eerder is gepubliceerd over het verband tussen infectiepercentage van het zaaizaad en schade te velde bij deze ziekte. In een in 1953 genomen veldproef werd per procent geïnfecteerd zaaizaad een verlies van 7 % der planten in

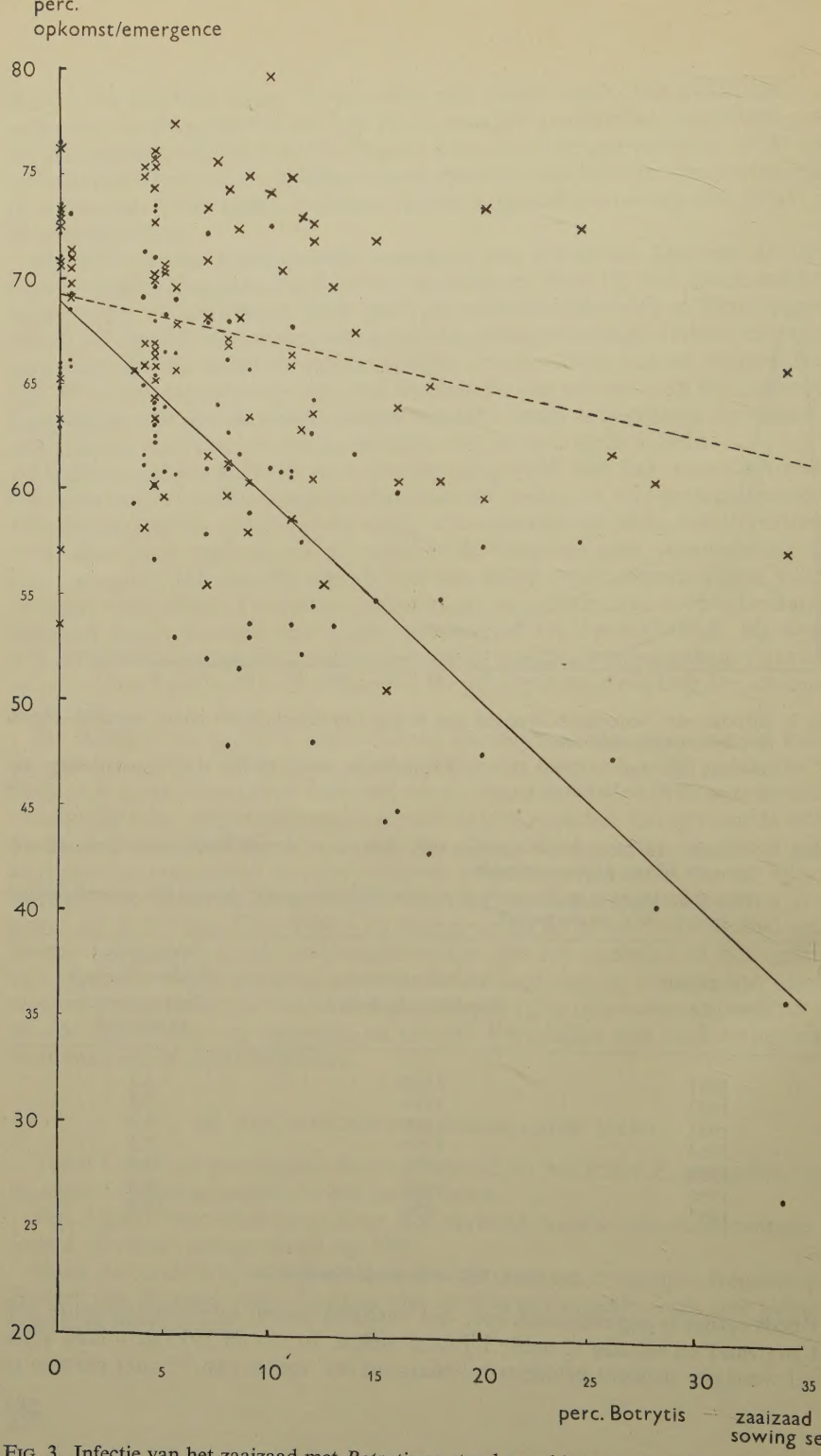


FIG. 3. Infectie van het zaaizaad met *Botrytis* en stand te velde; voorjaar 1957, 94 monsters
——— onbehandeld, - - - - - behandeld met 0,3 % TMTD.

Botrytis *infection of the sowing seed and field performance; spring 1957, 94 samples in heavy clay soil; counting two months after sowing.*
——— *untreated,* - - - - - *treated with 0.3 % thiram.*

het veld gevonden (KOOPMAN & DE TEMPE, 1954). In latere jaren is een dergelijk effect niet meer geconstateerd en vermoedelijk is het dan ook uitzonderlijk te achten. De figuren 3 en 4 geven de invloed van de infectie weer in veldproeven, die genomen werden in het voorjaar van 1957 en 1958 (zaai eind maart, standtelling eind mei).

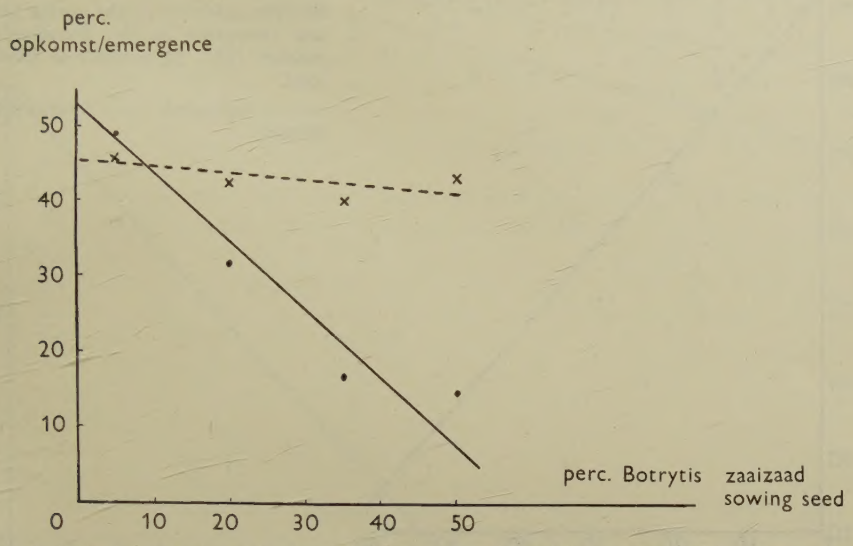


FIG. 4. Infectie van het zaaizaad met *Botrytis* en stand te velde; voorjaar 1958, vier gemengde monsters.
——— onbehandeld, - - - - - behandeld met TMTD.
Botrytis *infection of the sowing seed and field performance; spring 1958, four mixed samples in heavy clay soil; counting two months after sowing.*
——— *untreated,* - - - - - *treated with thiram.*

In de in voorjaar 1957 genomen proef op zware kleigrond bedroeg de regressiecoëfficient voor niet-ontsmet zaad –0,96, dat wil zeggen per procent geinfecteerd zaaizaad werd ongeveer 1 % standvermindering geconstateerd. In 1958 kwam het vrijwel op hetzelfde neer.

Ter vergelijking diene een tweetal in najaar en winter van 1957 met vers zaad genomen kasproeven (fig. 5 en 6). Ook hier was de schade dus ongeveer 1:1.

In het voorjaar van 1958 werd ook uit de praktijk de indruk verkregen, dat de in het gewas door *Botrytis* veroorzaakte schade gewoonlijk meeviel.

Op het Proefbedrijf van de N.A.K. in de Noordoostpolder wordt van alle exportmonsters 40 gram uitgezaaid op een veldje van $1\frac{3}{4}$ m² op lichte kleigrond. Tweemaal werden daar waarnemingen verricht over de door *Botrytis* in het jonge gewas veroorzaakte schade. Toen het gewas ongeveer 15 cm hoog stond (22 mei) werd voor een aantal veldjes de infectie geschat en gewaardeerd met cijfers van 0 (geen ziekte) tot 7 (veel ziekte). In fig. 7 zijn die waarderingscijfers uitgezet tegen de in het laboratorium voor de desbetreffende monsters gevonden infectiepercentages.

Toen het gewas een dag of 10 later omstreeks 20 cm mat en al erg dicht stond,

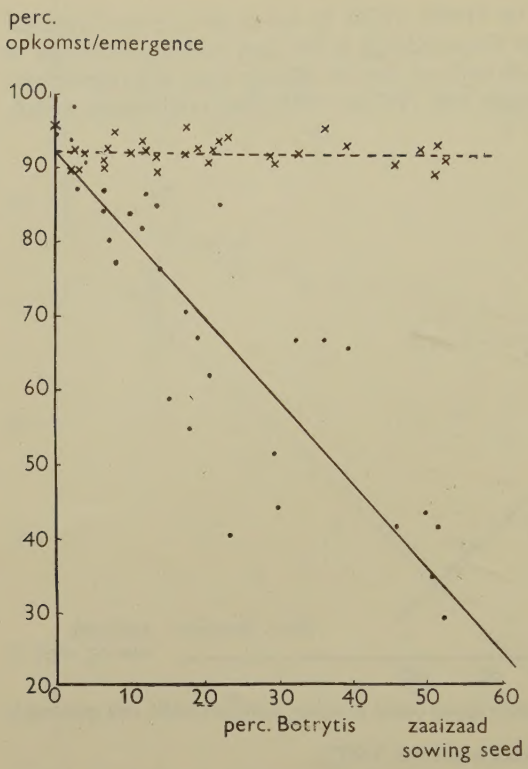


FIG. 5.
Infectie van het zaaizaad met *Botrytis* en opkomst in de kas; herfst 1957, 31 monsters in lemige zandgrond.
——— onbehandeld, - - - - - behandeld met TMTD.
Botrytis *infection of the sowing seed and emergence in the greenhouse; autumn 1957, 31 samples in loamy sand.*
——— *untreated,* - - - - - *treated with thiram.*

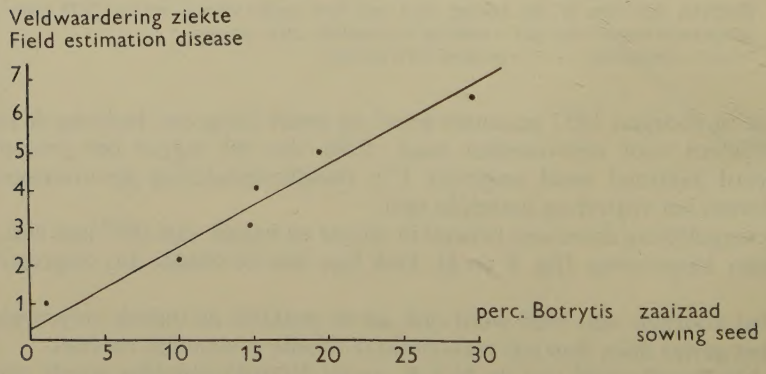


FIG. 7. Veldwaardering en laboratoriumonderzoek op *Botrytis;* voorjaar 1958, 89 monsters op lichte kleigrond.
Field estimation and laboratory evaluation of Botrytis *in flax; spring 1958, 89 samples on light clay soil.*

werd een tweede steekproef genomen. Het bleek niet meer mogelijk de mate van ziekte met één oogopslag te schatten, zodat wij er toen moesten overgaan het aantal infectiehaardjes per veldje te tellen. De resultaten van de telling zijn in fig. 8 weergegeven.

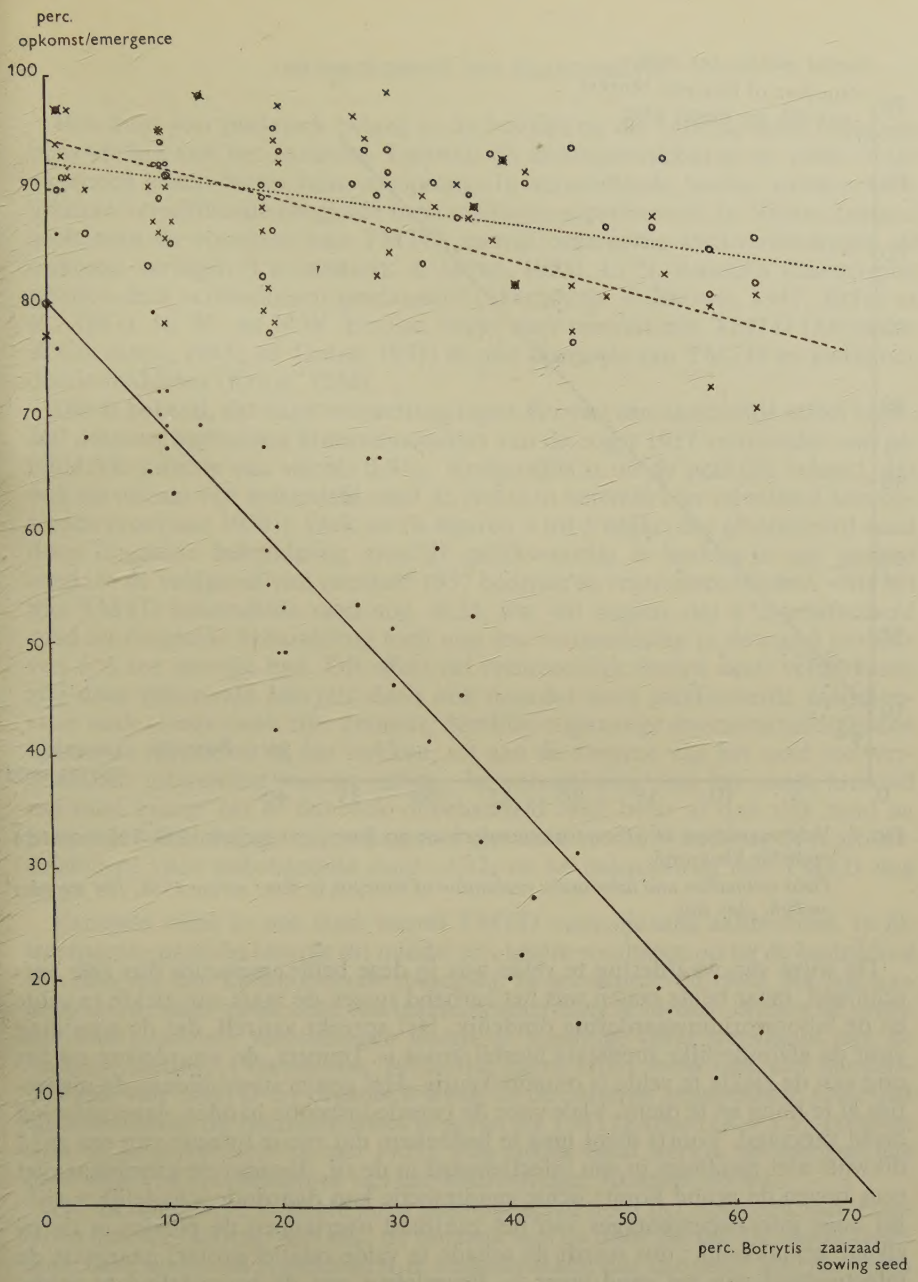


FIG. 6. Infectie van het zaaizaad met *Botrytis* en opkomst in de kas; winter 1957, 48 monsters in lemige zandgrond; eindtelling na twee maanden met tweemaal per week verwijdering der omgevallen kiemplanten.
——— onbehandeld, - - - - - behandeld met TMTD, ... behandeld met TMTD + kwikhoudend middel.

Botrytis *infection of the sowing seed and emergence in the greenhouse; winter 1957, 48 samples in loamy sand; final counting two months after sowing with repeated removal of* Botrytis-*infected seedlings.*
——— *untreated,* - - - - - *treated with thiram,* . . . . . *treated with thiram* + *mercurial.*

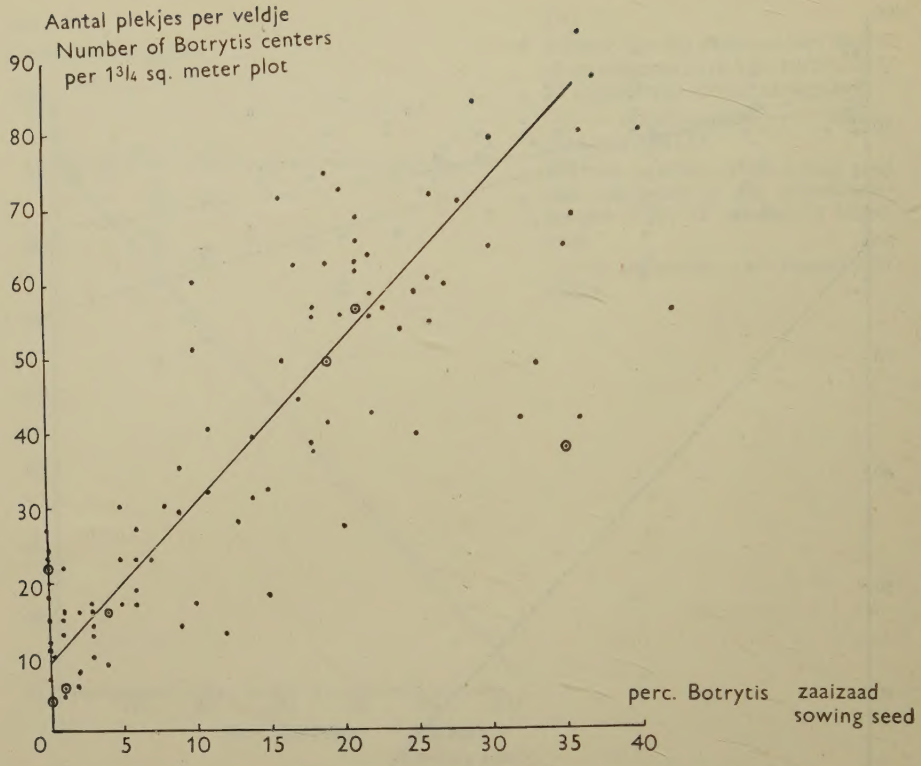


FIG. 8. Veldwaardering en laboratoriumonderzoek op *Botrytis;* voorjaar 1958, 104 monsters op lichte kleigrond.
Field estimation and laboratory evaluation of Botrytis in *flax; spring 1958, 104 samples on light clay soil.*

De wijze van waardering te velde was in deze beide inspecties dus zeer verschillend, maar beide malen was het verband tussen de mate van ziekte te velde en de laboratoriumwaardering duidelijk. Het spreekt vanzelf, dat de spreiding voor de afzonderlijke monsters hierbij groot is. Immers, de waardering op het oog van de ziekte te velde is onnauwkeurig. Het gewas stond tijdens de inspecties al te hoog en te dicht. Vlak voor de tweede inspectie hadden slagregens het beeld vervaagd. Voorts dient men te bedenken, dat zware infectie van een zaad dikwijls niet resulteert in een infectiehaard in de rij, doordat de kiemplant niet eens boven de grond komt; lichte zaadinfectie kan daardoor schadelijker zijn. Bij hoge infectiepercentages van het zaaizaad overlappen de plekjes in de rij elkaar gemakkelijk; dus wordt de schade te velde relatief groter, naarmate de infectiegraad van het zaad lager is. Vergeleken met de beoordeling te velde, waaraan zoveel bezwaren kleven, is de beoordeling van 4 × 100 zaden per monster in de filtreerpapier-proef in het laboratorium ongetwijfeld uiterst nauwkeurig te achten.

Een punt van praktisch belang is de bestrijding der infectie door fungicide behandeling van het zaaizaad. Immers, de ziekteontwikkeling te velde vindt nagenoeg alleen hierin haar oorsprong. In verschillende landen worden voor lijnzaad verschillende fungicide behandelingen geprefereerd. In Nieuw-Zeeland geeft men de voorkeur aan TMTD, terwijl organische kwikverbindingen de opkomst verlagen (CRUIKSHANK & JACKS, 1953). In N.-Amerika daarentegen worden deze verbindingen geadviseerd (MACHACEK & BROWN, 1945; REITZ et al., 1947). In W.- en N.W.-Europa werkt men meestal met TMTD (MUSKETT & COLHOUN, 1943; DE TEMPE, 1955) of met mengsels van TMTD en kwikhoudende middelen (KOLK, 1954).

Het is bekend, dat zaadontsmetting tegen *Botrytis* een aanzienlijk effect heeft: 260 ontsmet ontvangen lijnzaadmonsters van de oogst 1957 vertoonden een gemiddelde infectie van slechts 0,7 %. Anderszijds is uit de praktijk bekend, dat ook na uitzaai van behandeld zaad de ziekte in het veld zeer opvallend kan optreden (voorjaar 1958!). Ook uit de figuren 3 tot 5 blijkt, dat geïnfecteerd zaad door fungicide behandeling moeilijk gelijkwaardig te maken is aan gezond zaad: in de veldproef van voorjaar 1957 bedroeg de regressiecoëfficient voor het met TMTD behandelde zaad nog –0,23, wat wil zeggen, dat 4 % geïnfecteerd zaad na fungicide behandeling toch nog een vermindering in de stand te velde van 1 % ten gevolge had. Dit effect zal vermoedelijk slechts deels veroorzaakt zijn door resterende *Botrytis*, deels ook doordat sterk geïnfecteerde zaadmonsters vaak tevens zwak zijn. Immers, dezelfde ongunstige weersomstandigheden tijdens de rijping en na het trekken, tot aan de droging van het zaad toe, veroorzaken uitbreiding van de infectie èn verzwakking van het zaad. Gezond zaaizaad brengt het er dan ook onbehandeld vaak beter af dan ziek zaad na fungicide behandeling. In een kasproef met zaad van 1957 bedroeg de regressiecoëfficient voor onbehandeld zaad –1,12, en na behandeling met TMTD nog –0,27.

Vanouds werd in ons land vooral TMTD voor lijnzaad aanbevolen. In filtreerpapier-proeven leverde dit middel iets betere resultaten op bij de bestrijding van *Botrytis* dan kwikhoudende middelen. In grondproeven bleek het ook aan infectievrij, maar zwak zaad een betere bescherming te bieden. Binnen de groep der kwikhoudende verbindingen waren de vluchtige beter werkzaam dan de minder vluchtige (VEENENBOS, 1955). In latere jaren werd ook een handelsmengsel van TMTD en organisch kwik in de proeven opgenomen. Over het algemeen bleek dit hetzelfde effect te geven als TMTD alleen (R.P.v.Z.-proeven over de jaren 1952 tot en met 1957). Een enkele maal werkte het mengsel iets beter dan TMTD (veldproef van het Vlasinstituut: AUKEMA, 1956).

De toestand werd in latere jaren gecompliceerd door het optreden van *Ascochyta linicola* NAOUM. & VASS., de oorzaak van de dode harrel. De zaadinfectie door deze schimmel is moeilijker te onderdrukken dan die door *Botrytis*; zelfs de vluchtigste kwikprodukten zijn er verre van afdoend tegen. Dit zou aanleiding kunnen zijn om terug te keren tot het gebruik van TMTD/kwikmengsels, waarvan de TMTD-component zou moeten dienen om zwakke en beschadigde zaden te beschermen en het kwikhoudende deel om eventuele infectie met *Ascochyta* zo goed mogelijk te bestrijden.

Voor het zaad van oogstjaar 1957 behoefde vrijwel alleen rekening te worden

gehouden met *Botrytis*. *Ascochyta* bleek er heel weinig in voor te komen en dorsbeschadiging speelt geen belangrijke rol meer als gevolg van de verbeterde dorsmachinerie (VAN ES, 1955). Wel bleek spoedig, dat de percentages *Botrytis*-infectie dat jaar uitzonderlijk hoog waren en bovendien was de infectie bijzonder moeilijk te bestrijden (VAN DER SPEK, mondelinge mededeling). Men zie hiervoor fig. 9, die de resultaten weergeeft van de filtreerpapier-methode toegepast op een aantal al dan niet met TMTD ontsmette monsters. Naarmate de begininfectie hoger was bleef er na de TMTD-behandeling een groter gedeelte van over.

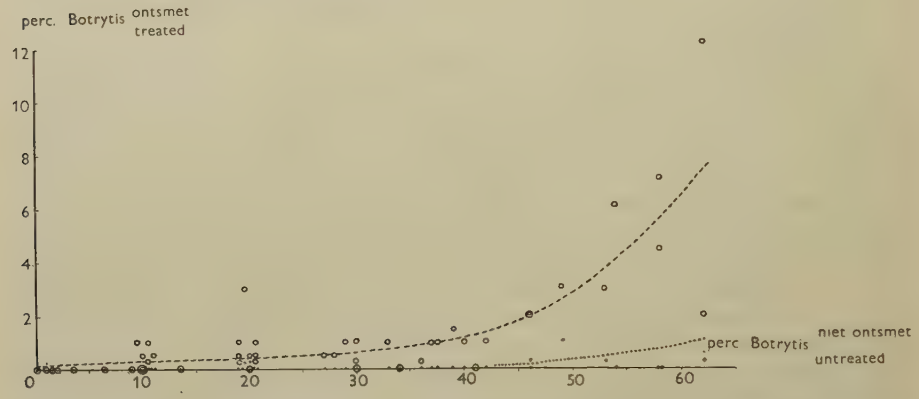


FIG. 9. Invloed van 0,3% TMTD, en van een mengsel van TMTD en een kwikhoudend middel op 47 monsters van met Botrytis geïnfecteerd lijnzaad, oogst 1957; filtreerpapier-methode.
- - - - - behandeld met TMTD, ... behandeld met TMTD + kwikhoudend middel.
Effect of 0.3% thiram and a mixture of thiram and mercurial, respectively, on 47 samples of Botrytis infected flax seed harvest 1957; blotter experiment.
- - - - - treated with thiram, ... treated with thiram + mercurial.

Blijkbaar hebben de ongunstige omstandigheden tijdens de rijping en na het trekken niet alleen hoge percentages zaadinfectie veroorzaakt, maar ook een abnormaal diep doordringen van de schimmel begunstigd.

Voor dezelfde monsters werd in deze filtreerpapier-proef het resultaat van TMTD-behandeling vergeleken met dat van behandeling met een handelsmengsel van TMTD en een kwikhoudende verbinding (tabel 2).

TABEL 2. Invloed van TMTD, resp. een handelsmengsel van TMTD en kwikhoudend middel op *Botrytis* in lijnzaad (filtreerpapier-proef).
Effect of thiram and commercial thiram-mercury mixture on the Botrytis *infection of flax seed (47 samples, blotter test).*

Onbehandeld/*untreated* gemiddeld/*average*	16,5%
0,3% TMTD/*thiram* gemiddeld/*average*	1,5%
0,3 TMTD + kwik/*thiram* + *merc.* gemiddeld/*average*	0,06%

Het mengsel is dus in deze laboratoriumproef duidelijk superieur.

Bovendien werden dezelfde monsters gebruikt voor een uitgebreide kasproef, die twee maanden werd aangehouden, terwijl de door *Botrytis* of door onbe-

kende oorzaak te gronde gaande kiemplanten enkele malen per week werden verwijderd om secundaire uitbreiding van infecties te beperken (tabel 3).

TABEL 3. Invloed van TMTD resp. een handelsmengsel van TMTD en kwikhoudend middel op *Botrytis* in lijnzaad (kasproef).

Effect of thiram and commercial thiram-mercury mixture on the Botrytis *infection of flax seed (47 samples, greenhouse experiment in loamy sand at about 15° C, finished after two months with repeated removal of damping-off seedlings).*

	Onbehandeld *non-treated* %	TMTD *thiram* %	TMTD/kwik *thiram/mercury* %
Zaailingen, aangetast door *Botrytis* *Seedlings affected by* Botrytis	16,7	1,3	0,4
Zaailingen, uitgevallen door onbekende oorzaak . . . . . *Seedlings affected by undetermined damping-off*	6,8	1,1	0,9
Eindstand/*Ultimate counting:*			
gezond/*healthy*	21,5	72,6	72,1
licht ziek/*slightly diseased* . . .	21,9	14,6	16,2
Doorgroeiend/*Total growing-on* .	43,4	87,2	88,3
Verband tussen de resultaten van laboratorium- en veldproeven: *Relation between the results of laboratory and field experiments:*			
Regressiecoëfficient/*Regression* . .	–1,12	–0,28	–0,10
Correlatie/*Correlation*	–0,91	–0,53	–0,37

De lichte ziekte in de eindtelling wordt vermoedelijk veroorzaakt door grondschimmels. De som van de percentages in de drie kolommen is kleiner dan 100, doordat wat niet opkomt aan waarneming ontsnapt.

Tegen het wegvallen van kiemplanten na opkomst – hetzij veroorzaakt door *Botrytis*, hetzij door onbekende oorzaak – lijkt het mengmiddel iets effectiever; voor de eindstand lijkt het iets gunstiger (zie fig. 6: regressie ten opzichte van de zaadinfectie na TMTD-behandeling –0,28, na TMTD/kwikbehandeling slechts –0,10). Omdat men zich in de praktijk natuurlijk niet bezig kan houden met periodieke verwijdering van aangetaste plantjes moet men uit deze proef concluderen dat over het geheel genomen ook in grond het mengsel van TMTD en het kwikhoudende middel duidelijk beter heeft voldaan dan TMTD alleen, hoewel bij lichte infectie TMTD iets beter lijkt. Vandaar dat het R.P.v.Z. afgelopen winter aan handelaars en telers geadviseerd heeft bij voorkeur een dergelijk handelsmengsel voor lijnzaad te gebruiken.

In het voorjaar van 1958 werd ook een veldproef genomen met een viertal mengmonsters van verschillend infectieniveau en een negental fungicide behandelingen naast de onbehandelde objecten. Eind maart werden per monster per behandeling 12 rijtjes à 500 zaden in zware kleigrond uitgezaaid. De standtelling vond eind mei plaats (tabel 4).

De opkomst was gering, wat de fout der bepaling groot maakt. TMTD en het mengsel van TMTD en kwikhoudend middel noteerden beide 43½ %. Hierbij moet in het oog gehouden worden, dat de omstandigheden der proef ongunstig waren voor uitbreiding der ziekte in het gewas, zodat de iets betere desinfecterende werking van het mengsel niet goed tot uiting kon komen. Een tweetal vluchtige kwikmiddelen bereikte evenwel een hoger peil, vooral een nog niet in de handel gebracht poedervormig middel. De betere resultaten met vluchtige kwikmiddelen zijn dit voorjaar door de praktijk bevestigd. De overige objecten der proef zijn niet in tabel 4 opgenomen, omdat ze minder interessante resultaten gegeven hebben.

TABEL 4. Fungicidenproef met lijnzaad, besmet met *Botrytis*, in het veld (voorjaar 1958).
Seed dressing experiment with Botrytis-*infected flax in the field (spring 1958. Dosage 0.3% 12 × 500 seeds per sample/treatment sown the end of March in heavy clay. Final counting the end of May).*

	Opkomst van monster met: *Emergence of sample with:*				Gemiddelde opkomst *Average emergence*
	5% Botr.	20% Botr.	35% Botr.	50% Botr.	
Onbehandeld/*untreated*	48½ %	31½ %	16½ %	14½ %	27¾ ± ¾ %
TMTD/*thiram*	45½ %	42½ %	40 %	43 %	43½ ± 1½ %
TMTD + kwik/*thiram + mercury*	48½ %	45 %	37½ %	43 %	43½ ± 1¼ %
Vloeibaar kwikhoudend ontsmettingsmiddel . . . . . *fluid mercurial seed dressing*	43 %	46½ %	45½ %	49½ %	46 ± 1½ %
Vluchtig org. kwikhoudend middel (poeder) . . . . . *volatile org. merc. seed dressing (dust)*	51 %	48½ %	46½ %	46 %	48 ± 1 %

BESPREKING

De *Botrytis*-infectie van lijnzaad is in verschillende jaren meer of minder sterk. Afhankelijk van de omstandigheden te velde kan een bepaald percentage geïnfecteerd zaad bovendien een zeer uiteenlopende mate van ziekte ten gevolge hebben. In de meeste jaren is de zaadinfectie gemiddeld niet sterk, al worden doorgaans wel enkele monsters aangetroffen met hoge infectiepercentages. In de oogst 1957 lag het gemiddelde uitzonderlijk hoog en hoge tot zeer hoge infectiepercentages kwamen veelvuldig voor.

Sinds een aantal jaren heeft het R.P.v.Z. veldproeven op zware kleigrond genomen ter bepaling van de invloed van de zaadinfectie en ter vergelijking van verschillende fungiciden voor bestrijding ervan. Omdat in deze veldproeven van ziektesymptomen weinig te zien is, waarschijnlijk doordat als gevolg van de moeilijke opkomst in de stugge grond geïnfecteerde kiemplanten in de regel niet opkomen, moet hierbij worden volstaan met vaststelling van de invloed der zaadinfectie op de stand van het gewas (d.w.z. het aantal planten per 100 gezaaide zaden bij telling ongeveer twee maanden na het uitzaaien). Daarbij werd in de veldproeven van de laatste jaren per procent geïnfecteerd zaaizaad ongeveer 1 % standsvermindering gevonden. Hetzelfde werd geconstateerd in een kasproef, waarbij de opkomst werd bepaald twee weken na het uitzaaien.

De omstandigheden in de kasproef (lemige zandgrond, temperatuur omstreeks 15°, gelijkmatige vochtigheid) zijn veel gunstiger voor de opkomst, maar blijkbaar ook voor pathogene activiteit, zodat wat dit laatste betreft in twee weken ongeveer eenzelfde effect wordt bereikt als te velde in twee maanden.

In de Noordoostpolder op lichte klei werd eveneens een duidelijk verband tussen ziektepercentage van het zaaizaad en ziekteontwikkeling in het veld geconstateerd. Men mag dan ook wel aannemen, dat *Botrytis* de belangrijkste opkomst- en standbeperkende factor is in lijnzaad.

Wat de bestrijding betreft werd in Nederland de laatste jaren de voorkeur gegeven aan TMTD, omdat in filtreerpapierproeven zowel als in grond bleek, dat *Botrytis* zich er iets beter door liet onderdrukken dan door organische kwikmiddelen. Van de laatste voldeden de minder vluchtige het slechtst. Bovendien bleek TMTD de voorkeur te verdienen ter bescherming van zwakke en beschadigde zaden tegen grondschimmels.

De werking van TMTD tegen *Botrytis* berust echter niet op het doden van de schimmel vóór het uitzaaien, maar op bescherming van de kiem tegen infectie, voortkomende uit de eigen zaadhuid. Waarschijnlijk groeit de schimmel na het zaaien over de zaadhuid naar de kiem en wordt daarbij gestuit door het fungicide.

Aangezien TMTD als gevolg van zijn zeer geringe oplosbaarheid en vluchtigheid niet snel na het uitzaaien verdwijnt (Samra, 1956) geeft het de kiemplant goede gelegenheid om aan de infectie te ontkomen. Kwikmiddelen verdwijnen spoedig na het uitzaaien en als ze er te voren niet in zijn geslaagd de schimmel door hun vluchtigheid te bereiken en hem te doden, dan kan deze daarna alsnog pathogeen optreden.

Niettemin werd reeds vroeger geconstateerd, dat geïnfecteerd zaad door TMTD-behandeling niet gelijkwaardig is te maken aan gezond zaad. Vermoedelijk is zwaar geïnfecteerd zaad dikwijls tevens zwak en is het fungicide niet in staat beide tekorten geheel op te heffen. Dit jaar (oogst 1957) werd voor het eerst geconstateerd, dat de bestrijding van *Botrytis* met TMTD vooral bij sterk geïnfecteerde monsters onvoldoende was. Van hoge infectiepercentages bleef na behandeling met TMTD een groter gedeelte over dan van lage beginpercentages. Mengsel van TMTD en een kwikhoudend middel bleek in filtreerpapier en in grondproeven een betere bestrijding te bewerkstelligen dan TMTD alleen, wat evenmin in vroegere jaren het geval was. Uit een veldproef van het R.P.v.Z. zowel als uit proeven van onderzoekers elders in het land, bleek bovendien, dat vluchtige kwikmiddelen in het voorjaar van 1958 een nog beter resultaat hadden.

Vermoedelijk was dit jaar de *Botrytis*-infectie vanwege het vochtige weer tijdens de rijping en na het trekken diep in de zaadhuid doorgedrongen, vooral bij partijen met hoge infectiepercentages. Men mag misschien veronderstellen, dat de schimmel soms na het uitzaaien de kiem kon bereiken door de zaadhuid heen zodat hij aan het fungicide op de zaadhuid kon ontsnappen, of dat de dieper zetelende schimmel soms zo langzaam te voorschijn kwam, dat het fungicide inmiddels verdwenen was. In dergelijke gevallen is misschien met vluchtige kwikverbindingen meer te bereiken vanwege hun doordringende en sterk dodende werking, vooral als het zaad overigens niet zwak is en dus weinig bescherming tegen grondschimmels nodig heeft (dorsbeschadiging als oorzaak van zwakte speelt geen belangrijke rol meer).

Men adviseert in verschillende landen fungiciden van verschillend type voor

behandeling van lijnzaad. Dit wijst erop, dat men ervaringen van elders niet klakkeloos op Nederlandse omstandigheden kan toepassen. Voor de oogst 1957 werd nu geconstateerd, dat niet TMTD het beste werkte, maar dat een mengsel van TMTD en kwikhoudend middel een gunstiger effect had en dat vermoedelijk met vluchtige kwikverbindingen nog meer te bereiken was. Men komt dus nu tot andere conclusies dan in vroegere jaren en dat wijst op de wenselijkheid met deze zaadsoort elk jaar opnieuw fungicidenproeven te nemen, liefst reeds een veldproef in het najaar, zodat een eventueel afwijkend gedrag tijdig wordt opgemerkt en het in adviezen aan de praktijk kan worden verwerkt.

SAMENVATTING

In fig. 2 wordt de infectie van lijnzaadmonsters met *Botrytis cinerea* voor verschillende jaren weergegeven, waarbij men ziet, dat deze voor het oogstjaar 1957 uitzonderlijk sterk was. Dit was aanleiding de door de ziekte veroorzaakte schade opnieuw te waarderen. Fig. 3 en 4 geven de invloed der zaadinfectie op de stand te velde weer (standpercentages bepaald twee maanden na het uitzaaien) en fig. 5 en 6 de invloed op de opkomst in kasproeven (opkomstpercentages bepaald twee weken na het uitzaaien). De schade was dus onder de omstandigheden van deze proeven veel minder dan vroeger wel eens werd geconstateerd.

Beoordeling van controleveldjes op het Proefbedrijf van de N.A.K. in de Noordoostpolder toonde aan, dat in het voorjaar van 1958 de ziekteontwikkeling daar niet zo sterk was als werd gevreesd (fig. 7 en 8). Er werd ook in 1958 een duidelijk verband geconstateerd tussen de zaadinfectie enerzijds en de stand te velde respectievelijk de ziekteontwikkeling te velde anderzijds (fig. 4, 7 en 8).

Uit fig. 3 tot 6 blijkt, dat de in ons land voor lijnzaad vanouds gepropageerde TMTD-behandeling niet ten volle bevredigt. Fig. 9 geeft de invloed weer van TMTD-behandeling op zaad van verschillende infectiegraad. Men ziet, dat bij hoge infectiepercentages het effect relatief minder is.

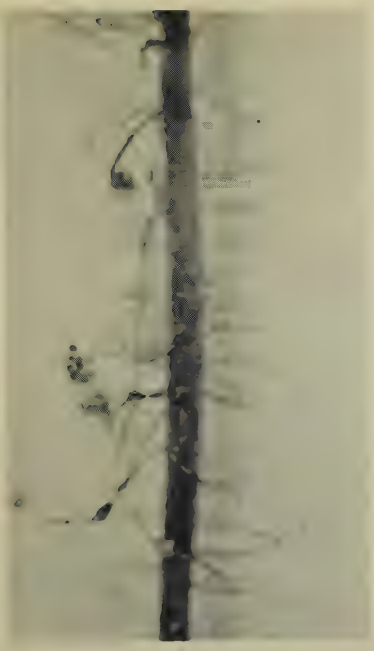
In een zorgvuldige vergelijking van TMTD met een handelsmengsel van TMTD en een kwikverbinding bleek, dat zowel in filtreerpapiermilieu (tabel 2) als in een kasproef (tabel 3 en fig. 6) het mengsel iets gunstiger werkt dan TMTD alleen. In de veldproef van voorjaar 1958 werd dat verschil in werking niet geconstateerd, maar wel bleken vluchtige kwikverbindingen daarin iets hogere standpercentages te geven dan TMTD of het mengsel.

SUMMARY

In this paper infection of flax with *Botrytis cinerea* is discussed, especially in connection with the high infection percentages found in seed samples of the 1957 harvest (table 1 and fig. 2).

The injury caused in flax by this pathogen is mainly restricted to the seedling stage and the ripening stage. Weather circumstances, normally prevailing in spring in Holland, may be very congenial to the fungus, so that it behaves as an active parasite on the young flax plant, not only killing seedlings from infected seeds but readily spreading to adjacent seedlings and frequently killing rows of plantlets.

Normally *Botrytis* infection of flax seed is evaluated in the Dutch seed testing



A

B

C

FIG. 1. *Botrytis cinerea* op vlas. A. Stengelbasis van een kiemplant. B. Stengel. C. Vrucht.
Botrytis cinerea *on flax. A. Stem base of seedling. B. Stem. C. Fruit.*

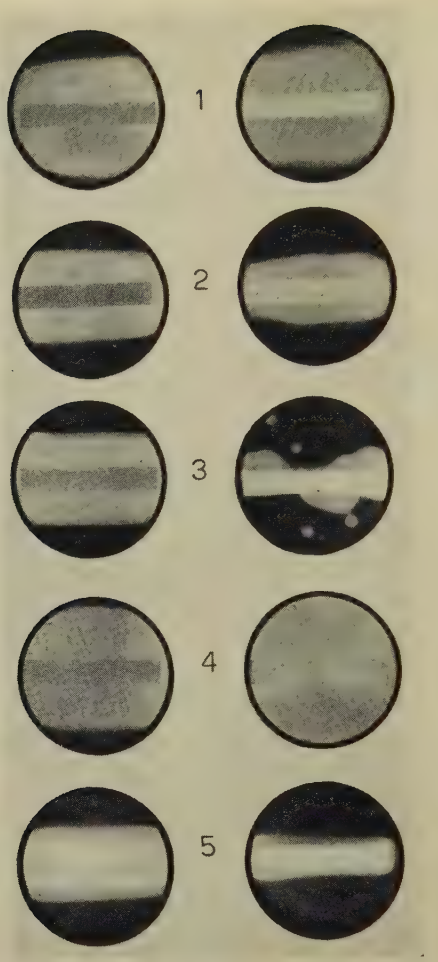


FIG. 2. Onderzoek naar de werkzaamheid van enige zaadontsmettingsmiddelen.
Evaluation of some commercial seed dressings.

Links, integrale werking. *At the left, integral action.*
Rechts, dampwerking. *At the right, vapour action.*
1. AAgrano '48 *dust*
2. Ceresan-new *dust*
3. AAmertam *dust*
4. AAgrano-nat *steep*
5. Ceresan-nat *steep*

station in a blotter test, finished after 6 days at 20° in a dark germinator. With this method infection percentages are found that are somewhat lower than those that may be obtained by planting non-sterilized seeds on nutrition agar. However, the latter method cannot be used in the Dutch station because of contamination of Petri dishes by quickly growing saprophytical fungi from the air, that remain annoying notwithstanding all measures tried to eradicate them.

Fig. 3, 4, 5 and 6 represent the relation between seed-borne infection and field performance (number of plants per 100 seeds sown determined two months after sowing) or greenhouse performance (emergence percentage determined two weeks after sowing, or after two months with repeated removal of *Botrytis*-infected seedlings). In the 1957 and 1958 field trials in heavy clay soil, however, emphasis lay on pre-emergence damping-off and secundary spread of the fungus was of little consequence. This explains why greenhouse experiments, where secondary spread of the fungus is prevented, can give comparable results, especially when other defects of the sowing-seed are of little importance.

Rough estimations of the degree of disease on light sea silt in the plots of the experimental farm of the Inspection Service for Seeds of Field Crops and Seed Potatoes (N.A.K.) also indicated a reasonable agreement between laboratory investigation results and field performance in this respect (fig. 7 and 8).

In addition control of seed-borne infection by fungicidal treatment was studied again. For flax seed different fungicides are advised in different parts of the world, which may bear relation to difference in flax varieties used, in pathogens or other defects of the seed, and in outward circumstances. In the Netherlands in the last years thiram has proved its superiority, both for controlling *Botrytis* and for emergence and ultimate stand. Mercurial compounds were less satisfactory and especially low-volatility mercurials were found to be inferior.

Thiram does not kill seed-borne *Botrytis* before sowing, but apparently it protects the seedling against invasion by the pathogen from its own seed-coat and does so very effectively in relation with its slow disappearance after sowing. In this way the result of thiram can be better even than that of volatile mercurials, which neither succeed in killing the seed-borne fungus completely and which disappear quickly after sowing.

Yet also after thiram treatment disease control is usually not quite satisfactory (fig. 3, 4, 5 and 6) and – in relation with the dense sowing – traces of infection left after treatment may become destructive in the field when circumstances are congenial for disease development. Now with seed of the 1957 harvest the results of thiram treatment of slightly and severely infected samples were compared (fig. 9). The relationship between the infection percentage appearing before and after treatment is not proportional: after treatment of high infection percentages a relatively greater part remains. Apparently high infection percentages coincide with a deeper penetration of the fungus into the seed-coat.

Some experiments in the past suggested the usefulness of a commercial thiram/mercury mixture (containing a mercury compound of low volatility) for flax seed treatment, whereas also the eventual presence of *Ascochyta linicola* may make the use of mercury beside thiram desirable. Therefore this year thiram and thiram/mercury mixture were compared in a blotter experiment, a greenhouse experiment and in the field. Contrary to the experience of many

years this year both blotter and greenhouse experiments indicated a slight superiority of the mixture. In the field experiment stands were the same after thiram or thiram/mercury mixture treatment but under the prevailing circumstances volatile mercurials gave stand percentages of a slightly higher level. The latter fact is confirmed by observations of others concerning disease development in the field after different seed treatments.

Clearly the *Botrytis* infection of flax seed in the 1957 harvest behaved somewhat abnormal. Whereas normally thiram was superior for flax seed treatment in Holland this year mercurial treatment gave better results, at least with high volatility mercurials. This emphasizes the desirability of making fungicide experiments in the field every year again, if possible in autumn, in order to be able to give advice before normal sowing-time.

LITERATUUR

Aukema, J. J., – 1956. Enkele gegevens over de ontsmetting van zaailijnzaad. Meded. NAK 13: 87; Zaadbelangen 10:265.

Van Es, A., – 1955. Threshing injury in linseed. Rep. I. Int. Flax Res. Congr., Wageningen: 101–106.

Colhoun, J., – 1944. Grey mould, Botrytis cinerea, of flax. Nature 153:25–26.

Cruickshank, I. A. M. & H. Jacks, – 1953. Effect of seed treatments on emergence of linseed and linen flax. New Zealand J. Sci. Technol. A, 35:33–38.

Kolk, H., – 1954. Fungus diseases in flax seed and the value of chemical treatments for controlling them. Medd. Statens centr. Frøkongr. 29:47–61.

Koopman, M. J. F. & J. de Tempe, – 1954. Comparison of laboratory evaluation of field performance of flax seed. Proc. intern. Seed Testing Ass. 19:24–31.

Machacek, J. E. & A. M. Brown, – 1945. Threshing injury to flax seed in Canada. Sci. Agr. 25:601–625.

Mackie, W. W., – 1940. Botrytis cinerea in Californian flax fields. Pl.Dis. Rep. 24:214–215.

Muskett, A. E. & J. Colhoun, – 1943. The prevention of seed-borne diseases of flax by seed disinfection. Ann. appl. Biol. 30:7–18.

Reitz, L. P., E. D. Hansing, F. E. Davidson & A. E. Decker – 1947. Viability and seed treatment of flax. J. Am. Soc. Agron. 39:959–970.

Samra, A. S., – 1956. Relative value and mode of action of some fungicides used as seed disinfectants and protectants. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen 56:1–51.

Spek, J. van der, – 1956. Kiemplantinfectie door Botrytis bij vlas. (Ref.). T.Pl.ziekten 62: 28–29.

Spek, J. van der, – 1957. De invloed der uitwendige omstandigheden op het effect van de ontsmetting van lijnzaad. Meded. Landbouwhogeschool Gent 22:535–545.

De Tempe, J., – 1955. Fungicide treatment of flax seed. Rep. I. Int. Flax Res. Congr., Wageningen: 90–93.

Veenenbos, J. A. J., – 1955. Seed treatment of flax. Rep. I. Int. Flax Res. Congr. Wageningen: 87–89.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 297–300

EEN METHODE VOOR VERGELIJKEND ONDERZOEK OVER DE INTEGRALE WERKING EN DE DAMPWERKING VAN DROGE EN NATTE ZAADONTSMETTINGSMIDDELEN [1])

With a summary: A method for testing the integral and the vapour action of seed-dressing dusts and steeps

DOOR

A. P. KOLE en LOUIS HSU WEI TCHONG [2])

Laboratorium voor Phytopathologie, Landbouwhogeschool, Wageningen

INLEIDING

Voortbouwende op het werk van FORSBERG en van JAKĚS heeft KUHFUSS (1957) een methode uitgewerkt voor het onderzoeken van de fungicide werking van droge en natte zaadontsmettingsmiddelen. Bij deze methode worden stukjes van een katoenen draad als drager van het ontsmettingsmiddel gebruikt. Na behandeling met het middel worden de draadjes uitgelegd op een agarvoedingsbodem door welke een sporensuspensie van een toetsschimmel is gemengd. De breedte van de remmingszone, die ter weerszijden van het stukje draad ontstaat, is een maat voor de werkzaamheid van het middel. Behandeling met een droogontsmettingsmiddel geschiedt door het draadje in het poeder rond te wentelen; de overmaat aan middel wordt verwijderd door het draadje voorzichtig tegen een glasplaat af te kloppen. Bij natontsmettingsmiddelen wordt het draadje in de te onderzoeken oplossing gedompeld, waarna de overmaat aan vloeistof met behulp van filtreerpapier wordt verwijderd. Deze methode heeft het bezwaar, dat de te onderzoeken middelen niet nauwkeurig gedoseerd kunnen worden.

Bij het beoordelen van een zaadontsmettingsmiddel kan het van belang zijn te weten hoe het met de dampwerking staat (GASSNER, 1951). Hierover wordt bij de methode volgens KUHFUSS geen uitsluitsel verkregen omdat er een direct contact is tussen het te onderzoeken middel en het substraat, waarin zich de sporen van de toetsschimmel bevinden, zodat de remmingszone de resultante is van de directe werking door diffusie van het middel in de agar en van de dampwerking (tezamen aangeduid als integrale werking).

GASSNER (1951) heeft een methode beschreven om van kwikbevattende zaadontsmettingsmiddelen de dampwerking te beoordelen. Hierbij worden steenbrandsporen op een substraat van klei in een petrischaal uitgestreken. Het te onderzoeken middel wordt, vermengd met een inert verdunningsmiddel, in een 4 mm brede strook op de klei gebracht. Langs één zijde van deze strook wordt met behulp van een objectglas een gleuf in de klei gemaakt waardoor diffusie van het middel door de klei aan die kant wordt verhinderd, zodat eventuele remming van de sporenkieming achter de gleuf uitsluitend het gevolg is van dampwerking. Behalve het feit, dat de methode van GASSNER vrij bewerkelijk is, heeft ook deze methode het nadeel van de weinig nauwkeurige dosering.

[1]) Aangenomen voor publikatie 19 mei 1958.

[2]) Gastmedewerker van het „Institut Agronomique de l'Université de Louvain."

Op geheel ander terrein, nl. bij de beoordeling van fungiciden ter bestrijding van vruchtvuur bij komkommers, is door BRAVENBOER (1953) een methode beschreven om de dampwerking op de kieming der sporen te onderzoeken. Hierbij wordt in het midden van de bodem van een petrischaal 200 mg van het fungicide neergelegd en in het deksel een mengsel van voedingsbodem en sporen gegoten. De diameter van het cirkelvormige gebied, waarin de sporen niet kiemen, is een maat voor de dampwerking. Bij deze methode is de dosering weliswaar nauwkeurig, maar de wijze, waarop het fungicide komt te liggen, is van subjectieve factoren afhankelijk.

METHODE VAN ONDERZOEK

De bezwaren, verbonden aan de hierboven beschreven methoden, werden als volgt ondervangen. Als drager van het fungicide werden strookjes filtreerpapier van 76 bij 13 mm gebruikt. Deze afmetingen komen overeen met de lengte en met de helft van de breedte van een objectglas (fig. 1). Een gelijkmatige verdeling en een nauwkeurige dosering van te onderzoeken droogontsmettingsmiddelen werd verkregen met behulp van een stuifapparaat volgens LOOSJES (1955). Per keer werd 200 mg verstoven; de dosering bedroeg hierbij 0,11 mg per cm^2. Vervolgens werd ieder strookje overgebracht naar een petrischaal met als voedingsbodem aardappelglucoseagar, welke vermengd was met een coni-

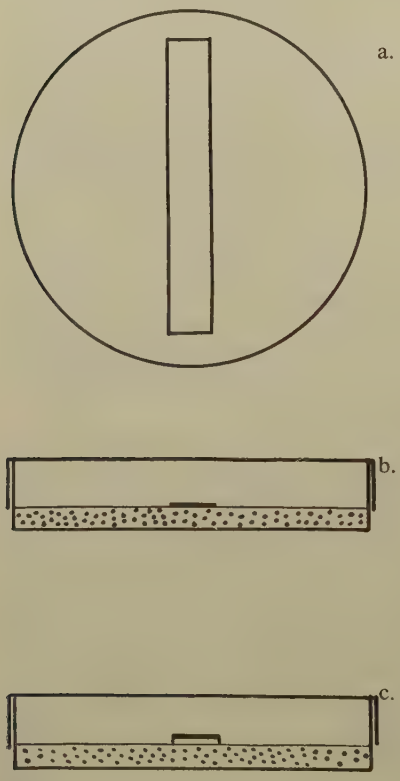


FIG. 1. Opstelling voor het onderzoek van zaadontsmettingsmiddelen.
Arrangement for testing seed dressings.

a. Bovenaanzicht. *Top view.*
b. Het strookje filtreerpapier ligt op de agar: integrale werking.
The filter-paper strip lies on the agar: integral action.
c. Het strookje filtreerpapier ligt op glas: dampwerking.
The filter-paper strip lies on glass: vapour action.

diënsuspensie van de schimmel *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & von Schrenk. De strookjes werden met behulp van twee pincetten voorzichtig op het midden van de agar uitgelegd. Om dit te vergemakkelijken werd onder de petrischaal een cirkelvormig stuk wit papier ter grootte van de schaal gelegd, waarbij een zwarte streep de plaats van het strookje aangaf. Nadat de schalen drie dagen bij een temperatuur van 23 °C hadden gestaan, werd de fungicide werking bepaald aan de hand van de remmingszone ter weerszijden van het filtreerpapier. Hiervoor werd genomen het gemiddelde van de breedte der twee remmingszonen links en rechts van het strookje filtreerpapier halverwege de lange zijde.

Bij het onderzoek van natontsmettingsmiddelen werd op overeenkomstige wijze gewerkt. Voor het verkrijgen van de vereiste dosering en van een gelijkmatige verdeling van het middel over de strookjes filtreerpapier werd hierbij gebruik gemaakt van een spuitapparaat volgens ten Houten & Kraak (1949). De middelen werden verspoten in een concentratie van 2 % bij een overdruk van 1 atmosfeer en een spuitduur van 10 sec. Er werd een spuitdop gebruikt met een opening van 0,45 mm. Op deze wijze werd een dosering van het natontsmettingsmiddel verkregen van 0,08 mg per cm^2.

Bij het onderzoek naar de dampwerking van beide typen van middelen werd een rechtstreeks contact tussen het filtreerpapiertje en de voedingsbodem vermeden door op de agar eerst een in de lengte gehalveerd objectglas te leggen en daarop het strookje filtreerpapier. De remmingszonen, die hierbij ontstaan, zijn uitsluitend het resultaat van de werking van het middel in de dampfase.

RESULTATEN

Volgens de hier beschreven methode werden enkele handelspreparaten van natte en droge zaadontsmettingsmiddelen op hun integrale werking en op hun dampwerking onderzocht, nl. de droogontsmettingsmiddelen: AAgrano '48, Ceresan-new, AAmertam en de natontsmettingsmiddelen: AAgrano-nat, Ceresan-nat. Dit zijn alle kwikbevattende middelen; AAmertam bevat tevens T.M.T.D.

In onderlinge vergelijking laten de resultaten zien (fig. 2, tegenover pag. 295):

AAgrano '48 heeft zowel een sterke integrale als een sterke dampwerking.

Ceresan-new heeft een iets geringere integrale werking dan AAgrano '48 en een aanmerkelijk zwakkere dampwerking.

AAmertam heeft een integrale werking gelijk aan die van Ceresan-new; bij de dampwerking doet zich een afwijkend beeld voor, het patroon is zeer onregelmatig en de dampwerking is gering.

AAgrano-nat heeft zowel een sterke integrale werking als een sterke dampwerking.

Ceresan-nat heeft een geringere integrale werking en een zeer geringe dampwerking.

Zoals uit de resultaten blijkt kan men op deze wijze gemakkelijk een indruk krijgen van twee belangrijke eigenschappen van zaadontsmettingsmiddelen. De variabiliteit in de uitkomsten van herhalingen van het onderzoek is gering en de methode is gemakkelijk uit te voeren. Men dient echter de beschikking te hebben over apparatuur voor gedoseerde bestuivingen en bespuitingen. Voor een beoordeling op praktijkwaarde blijft het uiteraard nodig in veldproeven de zaad-

ontsmettende werking en eventueel ook in kasproeven de fytotoxiciteit der middelen te onderzoeken.

SAMENVATTING

Droge en natte zaadontsmettingsmiddelen werden respectievelijk verstoven en verspoten op strookjes filtreerpapier. Voor het bepalen van de integrale werking werd ieder strookje rechtstreeks op een voedingsbodem met een toetsschimmel gelegd; bij het bepalen van de dampwerking werd direct contact tussen het filtreerpapier en de voedingsbodem vermeden door op de voedingsbodem eerst een reepje glas en daarop het strookje filtreerpapier te leggen.

SUMMARY

Two factors are of importance for the laboratory evaluation of seed dressings: the integral action consisting of the sum of the direct action by diffusion and the vapour action, and the vapour action separately. In testing seed dressings for the integral action, the fungicide is applied to filter-paper strips which are placed on the surface of potato-dextrose agar mixed with a conidial suspension of the fungus *Glomerella cingulata* in Petri dishes. After incubation for three days at 23 °C the width of the inhibition zone along the paper strips was taken as a measure for the fungicidal action. If seed dressings have to be tested for vapour action only, direct contact between the paper strips and the agar is avoided by putting a piece of glass (one half of a slide cut lengthwise) of the size of the paper strips between these and the agar. Dusts were applied to the paper strips with an apparatus according to Loosjes (1955) and steeps with a spraying apparatus according to ten Houten & Kraak (1949). The method was applied to evaluate some commercial products.

LITERATUUR

Bravenboer, L., – 1953. Methodiek voor de beproeving van bestrijdingsmiddelen tegen Cladosporium cucumerinum bij komkommers. Meded. L.H.S. Gent 18:374–384.

Gassner, G., – 1951. Über Gaswirkungen quecksilberhaltiger Beizmittel. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig) 3:113–117.

Houten, J. G. ten & M. Kraak, – 1949. A vertical spraying apparatus for the laboratory evaluation of all types of liquid pest control materials. Ann. appl. Biol. 36:394–405.

Kuhfuss, K. H., – 1957. Beitrag zur Methodik der Fungizidprüfung von Nasz- und Trockenbeizmitteln. Phytopath. Z. 28:281–284.

Loosjes, F. E., – 1955. Laboratorium stuifapparatuur. Versl. en Meded. Pl.ziektenk. Dienst 127 (Jaarboek 1954/1955): 200–204.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 301–306

CONTROL OF *LYGUS CAMPESTRIS* ON CARROT SEED CROPS IN NORTH HOLLAND [1])

Met een samenvatting: De bestrijding van Lygus campestris *in zaadwortelen in Noordholland*

DOOR

H. M. Th. van Turnhout and P. A. van der Laan

Laboratorium voor Toegepaste Entomologie, Amsterdam, The Netherlands

INTRODUCTION

Carrots (*Daucus carota* L.), cultivated for seed production, suffer often from yield reduction. Several unfavourable circumstances may be the cause of this, e.g. the fungus *Phomopsis dauci* von Arx, but it has been known for some time that the habit of some species of *Lygus* bugs of sucking the young fruits is the main reason for the damage. Handford (1949) describes *Lygus campestris* (L.)[2]) as a new pest of carrot seed crops in British Columbia. After Arnott (1955), however, not *Lygus campestris*, but *Lygus scutellatus* (Uhl.) is responsible for the damage in British Columbia. There is much doubt whether *L. campestris* occurs in North America. The overwintering adults caused retardation of growth of the young plants in the spring, but the main injury was done by the second generation which sucked the seeds. Treatments with DDT resulted in a good control.

Suchlike seed injuries which are often seen on several crops, e.g. Umbelliferae, beans, lucerne, were investigated thoroughly by Mrs. Flemion and co-workers at the Boyce Thompson Institute (Flemion & MacNear, 1951; Flemion, Ledbetter & Schaeffer-Kelley, 1954; Flemion, Weed & Miller, 1951). Their investigations concerned *Lygus oblineatus* (Say). Direct observations through the microscope as well as records on a motion picture film showed that the stylets were frequently plunged into and withdrawn from the plant tissue, travelling intra- as well as intercellularly, causing considerable mechanical injury. The bugs seem to feed on various tissues of the seed and locate the ovule in a haphazard manner. As the injury caused by *Lygus* has been reported to appear greater than the mere withdrawal of fluids of the plant cells would warrant, injection of toxic secretions has been postulated. Experiments, whereby *Lygus* bugs were made highly radioactive by allowing them to feed on sucrose solutions to which P^{32}-ions had been added, offer strong evidence that these insects on feeding inject oral secretions into host tissue. No evidence is given, however, to prove that these secretions are toxic.

The occurrence of embryoless seeds due to damage of *Lygus* bugs is recorded also from Denmark by Wagn (1954).

In the Netherlands this pest has been studied by Kho & Braak (1956). The injury to carrot seed by *Lygus campestris* was observed on carrot crops near

[1]) Accepted for publication 22 July 1958.

[2]) After a recent publication (Cobben, R. H., T. Ent. 101:1–45, 1958) the name *Lygus campestris* (L.) has to be changed into *Orthops campestris* (L.).

Hoorn (Province of North Holland) and demonstrated by cage experiments in a greenhouse with and without bugs. Carrot plants, injured by bugs, showed two kinds of losses: 1. reduction in the seed production due to abortion of endosperm and embryo; 2. reduction in the germination percentage of full-grown seeds due to embryolessness. These reductions were more serious if the bugs were placed on the plants early (during flowering) than if the bugs were placed later on.

Control measures have been investigated by CARLSON (1956) in North California with respect to *Lygus hesperus* (KNIGHT) on carrot seed. Cage tests demonstrated that one adult per flower head may give 60 % loss of seed, nine adults giving a total loss. Nymphs cause about twice as much damage as adults. One adult bug per two seed heads is enough to cause minor economic carrot seed damage, and if this number is found, control measures are advisable. Three treatments with 10 % DDT dust, beginning when 25 to 50 % of the seed heads were flowering with an interval of 10 to 15 days, proved to result in a highly effective control. CARLSON observed minor populations of two predacious bugs, *Nabis* sp. and *Cercoris* sp. which were killed also by the treatments and a red spider predator, *Orius* sp. which proved fairly tolerant to DDT.

FIELD EXPERIMENT

Lygus campestris hibernates in the adult stage and has at least two generations a year in this country. The first generation is of minor importance, the population never being so high that growth retardation of young plants may be feared. The second generation may be very injurous, as it occurs during flowering and seed ripening. Oviposition occurs at the beginning of July; the first nymphs of the second generation hatch after five days and grow up to adults after moulting four times. No predators have been found so far.

The eggs are very difficult to detect; they are $\frac{2}{3}$ mm long and found in the young carrot fruits; only 0.2 mm of the egg is visible. Detecting an egg in a carrot seed head is more difficult than finding a needle in a haystack. Newly hatched nymphs are very small, only 0.5 mm in length. As they are able to walk very quickly, they are easily distinguishable from aphids. Counting the number of nymphs and adults per seed head is possible, as they are easily caught by shaking off.

An experiment was done in July 1957 near Venhuizen (Province of North Holland). Carrots, sown for seed production, contained a fair number of bugs rather uniformly spread throughout the field. Two areas of each 24 × 5 m were chosen and each was divided into six plots of 4 × 5 m (fig. 1).

Adults and nymphs on ten seed heads of each plot were caught and counted to have an insight about the population before the treatment. The mean number of bugs (adults and nymphs) per seed head was 1.9. These counts were continued for seven weeks.

The plots A, E, I and L were left untreated; B, D, G and K were treated twice, on 5 and 17 July with DDT (10 g of 75 % wettable powder per 1 l per plot, i.e. 0.75 % in the amount of 500 l per hectare); plots C, F, H and J were treated in the same way with dieldrin (2 ml of „Dieldrex 15" per 1 l per plot). At the days of the treatment respectively 25 and 50 % of the heads were flowering.

G	H	I	J	K	L
DDT	DIELDRIN	CONTROL	DIELDRIN	DDT	CONTROL

A	B	C	D	E	F
CONTROL	DDT	DIELDRIN	DDT	CONTROL	DIELDRIN

FIG. 1. Scheme of the field experiment.
Schema van de veldproef.

The results of the counts are given in fig. 2 and 3. In all plots it is shown that the population of the bugs decreased during the first weeks after treatment, possibly due to adverse weather conditions. About 18 days after the first treatment the number of nymphs in the check plots increased very quickly, followed by those in the dieldrin plots. In the DDT plots, however, there was only a very slight increase of nymphs after a considerable time (about three weeks). The curves of the adult counts show that the increase started later there, and occurred in all plots, being fastest, however, in the untreated ones, and slowest in the DDT plots. The increase of adults in the DDT plots must be mainly due to migrating adults, flying from the adjacent plots.

On the advice of the "Proefstation voor Zaadcontrôle" at Wageningen, 4×100 seeds from each of the 11 quantities were used for a germination test (The crop of one of the control plots was lost). The seeds were placed in dishes on moist filter paper, desinfected with germisan and given intermittantly light at 30 °C during eight hours, and darkness at 17 °C during 16 hours. Dormancy of the seeds in the autumn is broken in that way, and the seeds germinate normally in November within 21 days. Three categories of germination were distinguished: 1. normal germination; 2. poor germination, mainly due to slight fungus attack; 3. no germination. The results are given in table 1.

TABLE 1. Results of the germination test. Means of four replicates of crops treated with DDT and dieldrin, respectively, and of three replicates of the untreated crop.
Resultaten van de kiemproef. Gemiddelden van vier herhalingen van het gewas, behandeld met respectievelijk DDT en dieldrin en van drie herhalingen van het onbehandelde gewas.

	normal germination *normale kieming*	poor germination *slechte kieming*	no germination *geen kieming*
DDT treated/*beh. met DDT* . .	89.5%	6.0%	4.4%
dieldrin treated/*beh. met dieldrin*	65.1%	19.1%	15.8%
untreated/*onbehandeld*	53.2%	20.2%	26.6%

Both treatments resulted in better yields than the control plots. There is also a significant difference between the yields of the DDT plots and those of the dieldrin plots, those of the DDT plots being better. Moreover it is remarkable that the percentages poorly germinated seeds in the DDT plots are lower than those in the other plots. Poor germination is mainly caused by fungi which are

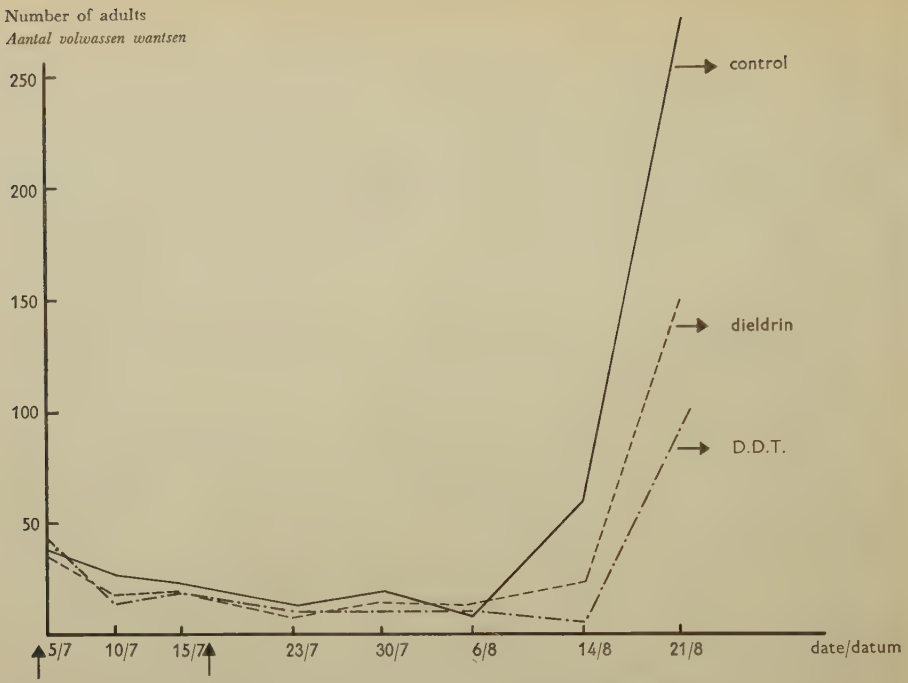


FIG. 2. Course of population of adult bugs after different treatments.
Verloop der populatie van de volwassen wantsen na verschillende behandelingen.
↑ : date of treatment / *datum der behandeling.*

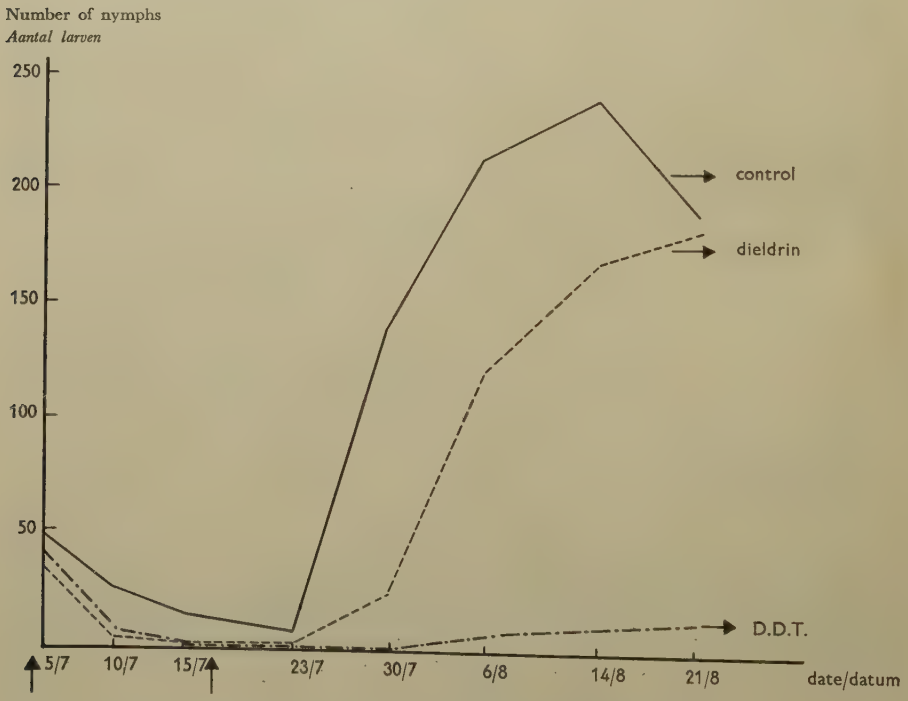


FIG. 3. Course of population of nymphs after different treatments.
Verloop van de populatie van de larven na verschillende behandelingen.
↑ : date of treatment / *datum der behandeling.*

killing the already germinated seeds. This appeared to be correlated with the damage done by the bugs. Perhaps slight damage is done to those seeds, resulting in larger susceptibility to fungus attack after germination.

The crop of the control plots produced significantly more non-germinating seeds than the dieldrin plots, which produced on their turn significantly more non-germinating seeds than the DDT plots.

Acknowledgements

The authors should like to thank Mr. G. Houtman (Hoorn) for the initiation of this work, Mr. P. Huisman (Hoorn) for technical assistance and Dr. K. Mellanby (Harpenden) for critical review of the English text. This work has been financed by the "Algemene Vereniging van Tuinzaadtelers in Noord-Holland".

Summary

In a field experiment against *Lygus campestris*, attacking the young seeds of carrots cultivated for seed in North Holland, two treatments with an atomized spray of 0.75 % DDT prevented an increase of the population of the bugs which started 18 days after the first treatment. Dieldrin-spray, 0.2 % Dieldrex 15, had less effect. DDT raised the yield of the treated crop from 53 to 89 per cent., dieldrin from 53 to 65 per cent., estimated by counting the well-germinated seeds per plot.

Samenvatting

In Noordholland werd een veldproef opgezet om de werking van DDT en dieldrin na te gaan op de populatie van *Lygus campestris* (L.). Deze wants tast de zaden aan van wortelen, die in de omgeving van Hoorn gekweekt worden voor zaadwinning en veroorzaken daarbij embryoloosheid. Op 5 en 17 juli 1957 werd gespoten met 0,75 % DDT en 0,2 % Dieldrex 15. DDT bleek lange tijd de wantsenpopulatie sterk te drukken, terwijl dieldrin veel minder effectief bleek.

Kiemproeven met het aldus behandelde en onbehandeld zaad toonden aan dat, waar de controleveldjes een kiemingspercentage gaven van 53 %, dit op de DDT veldjes verhoogd was tot 89 % en op de dieldrinveldjes tot 65 %. Op de DDT-veldjes bleek ook het percentage slecht gekiemde zaden, te wijten aan schimmel- en bacterieaantasting na de kieming, in vergelijking met de controleveldjes sterk te zijn gedaald.

References

Arnott, D. A., – 1955. Some factors reducing carrot seed yield in British Columbia. Proc. ent. Soc. B.C. 52:27–30.

Carlson, E. C., – 1956. Lygus bug injury and control on carrot seed in North California. J. econ. Ent. 49:689–696.

Flemion, F., M. C. Ledbetter & E. Schaeffer-Kelley, – 1954. Penetration and damage of plant tissues during feeding by the tarnished plant bug (Lygus oblineatus). Contr. Boyce Thompson Inst. 17:347–357.

Flemion, F. & B. T. Macnear, – 1951. Reduction of vegetative growth and seed yield in Umbelliferous plants by Lygus oblineatus. Contr. Boyce Thompson Inst. 16:279–283.

Flemion, F., R. M. Weed & L. P. Miller, – 1951. Deposition of P^{32} into host tissue through the oral secretions of Lygus oblineatus. Contr. Boyce Thompson Inst. 16:285–294.
Handford, R. H., – 1949. Lygus campestris: a new pest of carrot seed crops. Can. Ent. 81:123–126.
Kho, Y. O. & J. P. Braak, – 1956. Reduction in the yield and viability of carrot seed in relation to the occurrence of the plant bug Lygus campestris L. Euphytica 5:146–156.
Wagn, O., – 1954. Mirids and the occurrence of embryoless seed in Umbelliferae. (Danish). Tidskr. Planteavl. 58:58–90 (Abstr. in Rev. appl. Ent. 44:405, 1956).

T. Pl.ziekten 64 (1958): 307–327

INVESTIGATIONS ON PLANT CHEMOTHERAPY

II. INFLUENCE OF AMINO ACIDS ON THE RELATION PLANT-PATHOGEN[1] [2])

Met een samenvatting: Onderzoekingen op het gebied van de chemotherapie II. Invloed van aminozuren op de relatie plant-pathogeen

BY

O. M. VAN ANDEL
Laboratory of Phytopathology, Wageningen

INTRODUCTION

In investigations concerning plant chemotherapy, VAN RAALTE, KAARS SIJPESTEIJN, VAN DER KERK, OORT & PLUYGERS (1955) have shown that S-carboxymethyl-N,N-dimethyldithiocarbamate (in this article referred to as carboxymethyl-DDC) after intake by the root of cucumber plants increases the resistance of the above-ground parts against the fungus *Cladosporium cucumerinum*. Carboxymethyl-DDC is therefore a compound with systemic activity, having moreover the remarkable property that in vitro it can be hardly called a fungicide: it only exerts an influence within the plant. This protective influence might be explained in two ways, viz. by assuming that within the plant the compound is decomposed and produces the fungitoxic thio- or dithiocarbamate ion or by taking that the compound influences the metabolism of the plant and in that way would increase the resistance.

The latter possibility induced the present writer to study the influence of amino acids on the effect of carboxymethyl-DDC. For this purpose the plants were placed in solutions of amino acids ascertaining their effect with or without carboxymethyl-DDC. The experiments showed that several amino acids themselves greatly influence the severity of the disease, that is the relation plant-pathogen.

In some publications only mention is made of an influence of amino acids on the susceptibility of plants to pathogens. For instance ALTEN & ORTH (1941) found that in potatoes there is a correlation between resistance to *Phytophthora infestans* and the arginine content, such that a higher content of arginine occurs in more resistant varieties. KLEIN (1956) established that large dressings of ammonium nitrogen increased the glutamic acid and glutamine content in tobacco, which correlated with a higher susceptibility to some fungi. KUĆ et al. (1957), in actively growing shoots of apples, brought phenylalanine into the petioles and 24 hours later they inoculated the leaves with *Venturia inaequalis*. This appeared to decrease the infection.

After discussing the methods and material used we will first give a survey of the effect of amino acids and related compounds. The results obtained led to some preliminary investigations on the influence of the active amino acids on

[1]) These investigations were carried out as part of the programme of the Research Unit for Internal Therapy of Plant Diseases and were partially sponsored by T.N.O.
[2]) Accepted for publication 12 August 1958.

the pathogens in vitro. The few experiments on the influence of amino acids on the development of the host plant are considered in the discussion as well as the research of the fungicidal influence of sap obtained from plants treated with amino acids.

I am much indebted to the members of the Research Team for Internal Therapy of Plant Diseases for their valuable suggestions and criticism. Thanks are due to Dr. J. VAN DIE for carrying out some analyses of the amino acid content of cucumber plants, to G. DE ZOETE for carrying out part of the investigations on the influence of amino acids on the growth of fungi in vitro, and to Mrs J. SPARENBURG-OOMENS and Miss M. VAN DER GIESSEN for their assistance in the experiments.

MATERIAL AND METHODS

Most of the investigations were carried out with the cucumber as a test plant and *Cladosporium cucumerinum* ELL. et ARTL. as the pathogen. A number of experiments was repeated later with other plant-pathogen combinations in order to ascertain whether the effects found were of a general or of a more specific nature.

Cucumber (*Cucumis sativus*. L.).

Cucumber plants are very suitable as test plants since they are easy to grow and because the incubation period after inoculation with *Cladosporium cucumerinum* is short. The variety Lange gele Tros was used in the experiments. The seedlings were grown in partially sterilized sand, and, when they were seven to ten days old (the cotyledons have then developed fully but no leaves have been formed) they were placed with their roots in solutions of the compounds in water. After two days the roots were rinsed and placed in water; the plants were then sprayed with a conidial suspension of *Cladosporium cucumerinum*. After staying in a moist environment at 18° to 20 °C for five to seven days the hypocotyls showed symptoms of the disease, but the cotyledons were seldom affected, so that only the hypocotyls were considered in estimating the disease index. The latter was graded in a scale from 0–6, in which 0 meant healthy and 6 very heavily diseased. The total disease index for every treatment was obtained by adding the products of every disease index and the number of plants having that disease index. The experiments were not carried out under constant conditions and the variation was considerable. In order to simplify the mutual comparison of the different experiments we have always put the total disease index of the control plants at 100 and expressed the severity of disease of the treated plants as percentage of the control. For example, if ten control plants all have a disease index of 6, and treatment with substance X results in four plants with the index 6, three plants having the index 3 and three having the index 1, then the severity of disease will be $\frac{36}{60} \times 100 = 60\,\%$. It will be clear that the estimation itself is not very accurate and differences of less than 10 % certainly cannot be considered real.

In these experiments only the preventive effect of the compounds was ascertained.

In a number of experiments older cucumber plants were used instead of

seedlings. These were grown in soil and used when two or three leaves had developed. The way of treatment will be mentioned in the discussion of the separate experiments. Just as with the seedlings, the plants were treated before the inoculation, unless mentioned otherwise. The inoculation was carried out in the same way as in the seedlings, but it lasted six to ten days before the disease index could be assessed. Particularly the vines, buds and young leaves were affected. The symptoms of the whole plant were considered in the estimation. The grade for severity of disease was obtained by using a fourfold scale (healthy = 0, heavily diseased = 3). The computation of the severity of disease as percentage of the control was carried out as described above.

The results obtained with cucumbers were supplemented with experiments with other plants.

Broad bean (*Vicia Faba* L.)

Plants of the variety Con Amore with two fully developed leaves were placed with their roots in the solutions to be tested. After two days the solutions were replaced by water. The plants were sprayed with a suspension of conidia of *Botrytis fabae* SARD. and kept under moist conditions at 23 °C; 24 hours after inoculation the number of spots on an area of 18 × 18 mm^2 of one leaflet of each leaf was counted (FAWCETT, SPENCER & WAIN, 1955). A distinction was made between large and small spots. In the tables the average of the total number of spots per plant of the control has been put at 100, so that the severity of disease could again be expressed as percentage of the control.

Tomatoes (*Solanum Lycopersicum* L.)

Plants with four or five leaves of the variety Tuckqueen were inoculated with *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY by spraying with a suspension of zoospores. The disease index was assessed after four to five days in a moist environment at 18° to 20 °C. A fourfold scale was used in which healthy = 0, heavily diseased = 3. As in the preceding treatments the severity of disease was obtained by expressing the total disease index for any treatment as percentage of that of the control. The solutions were applied before the inoculation.

The concentrations of the solutions used have in general been indicated in percentages. In some experiments they have been computed in mol. in order to enable a better mutual comparison. The pH of the solution was brought on 5.5 to 6 by adding potassium hydroxide or hydrochloric acid if necessary.

INFLUENCE OF AMINO ACIDS ON THE RELATION PLANT–PATHOGEN

Solutions of 0.50 and 0.25 % were applied and when these appeared to be phytotoxic, also solutions of 0.10 and 0.05 % were used. The phytotoxicity was judged only by sight according to the turgescence of the roots and the whole plant, according to the injury of the cotyledons etc. As from some experiments it had become clear that there are amino acids which only exert an influence in combination with a fungicide, all experiments were carried out both without and with addition of such a fungicide. For that purpose in particular sodiumdimethyldithiocarbamate (NaDDC) was used in a concentration of 100 or 50 ppm. From the results given in tabel 1 it appears that the amino acids can be roughly divided into three groups:

TABLE 1. Effect of amino acids on the infection of cucumber seedlings by *Cladosporium cucumerinum*.

Effect van aminozuren op de aantasting van komkommerkiemplanten door Cladosporium cucumerinum.

	Activity in seedling test *Werkzaamheid in komkommertoets*		Toxicity for cucumber* *Toxiciteit voor komkommers*
	without NaDDC *zonder* „	with NaDDC *met* „	
DL-serine	++	+++	±
D(+)-serine	++	+++	±
L(—)-serine	±	±	–
DL-threonine	++	+++	±
D(+)-threonine	++	+++	±
L(—)-threonine	±	±	–
DL-allothreonine	–	–	+
L(—)-threo-β-phenylserine	++	+++	±
DL-histidinemonohydrochloride	+	+	–
D(+)-histidinemonohydrochloride	+	+	±
L(—)histidinemonohydrochloride	–	–	–
glycine	–	++	–
DL-alanine	–	++	–
D(—)-alanine	–	+	±
L(+)-alanine	–	±	–
sarcosine	–	++	±
betaine	–	–	+
DL-β-alanine	–	±	+
DL-α,β-diaminopropionic acid	+	+	+
DL-phenylalanine	–	–	–
DL-dioxyphenylalanine	?	?	–
DL-α-aminobutyric acid	–	–	+
DL-β-aminobutyric acid	–	±	+
γ-aminobutyric acid	–	–	–
DL-α-aminoisobutyric acid	–	–	+
DL-β-aminoisobutyric acid	–	±	+
DL-norvaline	–	–	+
L(—)-valine	–	–	+
norleucine	–	–	–
D(+)-leucine	–	–	+
D(—)-isoleucine	–	–	–
DL-lysinedihydrochloride	–	–	+
DL-aspartic acid	±	±	–
L(—)-asparagine	–	–	–
DL-glutamic acid	–	–	–
L(+)-glutamine	–	–	–
L(—)-cysteinehydrochloride	–	–	++
L(—)-cystine	–	–	–
DL-methionine	±	±	–
DL-aethionine	–	–	+
L(+)-ornithinedihydrochloride	–	–	+
DL-citrulline	–	–	–
L(+)-arginine base	–	–	–
DL-proline	±	±	++
hydroxyproline	±	±	++
DL-tryptophane	–	–	–
glycylglycine	–	++	–
DL-alanylglycine	–	++	–
glycyl-DL-phenylalanine	–	–	–
diketopiperazine	–	–	–

* ± = toxic in concentrations of 0.50% and more; + = toxic in concentrations of 0.50–0.10%; ++ = toxic in concentrations of less than 0.10%.

± = toxisch in concentraties van 0,50% en hoger; + = toxisch in concentraties van 0,50–0,10%; ++ = toxisch in concentraties van minder dan 0,10%.

A. Amino acids which applied alone produce a marked increase in resistance against *Cladosporium cucumerinum* (serine-group and histidine).

B. Amino acids, which have no influence when applied alone, but which do increase the resistance in combination with NaDDC and other fungicidal compounds (glycine-group).

C. Amino acids which have no pronounced effect, whether applied separately or in combination with NaDDC.

A. Amino acids of the serine-group and histidine

Among the amino acids of group A are in the first place serine, threonine and threo-β-phenylserine, secondly histidine. The effect of the serine-group is given first, histidine being discussed afterwards.

The first mentioned compounds have the formule $COOH.CHNH_2.CHOHR$ in which R may be substituted by H, CH_3 or a phenyl group. The influence of DL-serine is apparent from table 2. Diaminopropionic acid, in which the hydroxyl group of serine is substituted by an amino group was also investigated. The phytotoxic effect of this compound appeared to be too great to allow a conclusion. In most cases we used DL-serine and DL-threonine while we had at our disposal only the L-form of threo-β-phenylserine. The activity of the optical isomers was compared in a separate experiment. L-serine and L-threonine proved to have practically no influence on the resistance while the D-forms were very active (table 3). DL-allothreonine gave no protection in contrast to DL-threonine. Kuć et al. (1957) also found that only D-phenylalanine protected apples against *Venturia inaequalis*.

TABLE 2. Effect of amino acids of group A. Cucumber seedling test.
Invloed van de aminozuren van groep A. Komkommerkiemplantentoets.

Concentration	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*		
	DL-serine	DL-threonine	DL-histidine
Control (water)	100	100	100
0.025 M	79	24	51
0.050 M	46	14	16
0.075 M	26	2	*

* Phytotoxic

TABLE 3. Effect of stereoisomers of serine. Cucumber seedling test.
Effect van de stereo-isomeren van serine. Komkommerkiemplantentoets.

Concentration	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*		
	DL-serine	D(+)serine	L(—)serine
Control (water)	100	100	100
0.20%	60	43	86
0.40%	31	12*	93
0.80%	24*	–	–

* Phytotoxic effect on roots.
wortels beschadigd.

Active concentration. The lower limit of the active concentration lay, under the conditions of the experiments, between 0.50 and 0,25 % or 0.050 and 0.025 M for DL-serine (tabel 2), while L-threo-β-phenylserine had a marked effect at a concentration of 0.10 % (± 0.0055 M). When a mixture of DL-serine and DL-threonine in various ratios was used, an additive effect could be observed. A cumulative or antagonistic effect was out of the question.

Importance of nitrogen supply. Amino acids taken up by the roots may in some cases serve as a source of nitrogen (ROBBINS, 1951). In order to ascertain whether the increased resistance which was observed could be due to a better supply of nitrogen, the protective influence of anorganic nitrogen compounds was investigated. For that purpose the plants were placed in a nutrient solution according to HOAGLAND, which contained calcium and potassium nitrate. This had no effect. Solutions of ammonium salts of which the nitrogen content could be compared with that of the serine solutions used, had no influence either.

Application to the cotyledons. From the experiments described above it is clear that parts of plants which themselves have not been in contact with the amino acids were protected against the fungus; in other words, serine or a derivative compound was transported upwards. In order to ascertain whether uptake by the cotyledons was also possible the following experiment was made: agar was added to a quantity of the solution which was otherwise used for 10 plants; the agar plate was cut into 20 cubes and on both sides of the cotyledons of 10 plants a cube was fixed. After two days the agar was removed and inoculation took place in the usual way. It is difficult to compare the intake by roots and by cotyledons, but in this way both concentration and total quantity of the substance supplied were the same in both cases. Table 4 shows in both cases a protective effect when 0.50 % or more concentrated solutions were used. Apart from intake into the cotyledons there is apparently also some transport from the cotyledons downwards.

TABLE 4. Effect of application of DL-serine on roots and on cotyledons. Cucumber seedling test.

Effect van DL-*serine, toegediend aan de wortels of de cotylen. Komkommerkiemplantentoets.*

Concentration	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*	
	Applied on roots *Aan de wortels toegediend*	Applied on cotyledons *Aan de cotylen toegediend*
Control (water)	100	100
DL-serine 0.10%	100	85
„ 0.25%	93	83
„ 0.50%	65	52
„ 1.00%	9	26

Combination with other compounds. As was stated in the Introduction this effect of serine was found during an investigation of the influence of amino acids on the activity of carboxymethyl-DDC in cucumbers. While in most experiments only a 0.50 % solution of DL-serine gave a marked effect, a similar influence appeared to be exerted by a 0.10 % solution to which 100 ppm carboxymethyl-DDC was added (table 5; fig. 1 and 2). However, carboxymethyl-DDC itself shows systemic activity (VAN RAALTE et al. 1955) so that from this it

could not be concluded whether this is a cumulative or an additive effect. In order to gain a better insight in this question a number of compounds related to carboxymethyl-DDC which in the cucumber test gave negative or very slight positive results, were applied in combination with DL-serine (table 6). In this case always a suboptimal concentration of serine was given in order to set off better the increase in effectivity. In the left column of table 6 is indicated the effect of the compound tested by itself, in the right column the effect in combination with 0.25 % DL-serine.

TABLE 5. Effect of DL-serine, applied without and in combination with carboxymethyl-DDC. Cucumber seedling test.

Effect van DL-*serine alleen en in combinatie met carboxymethyl-DDC toegediend. Komkommerkiemplantentoets.*

Concentration	Severity of disease in % *Mate van aantasting in* %	
	Without carboxymethyl-DDC *Zonder* „	With Carboxymethyl-DDC *Met* „
Control (water)	100	100
DL-serine 0.10%	100	31
„ 0.25%	96	26
„ 0.50%	42	0
„ 1.00%	0	0

TABLE 6. Activity of carbamates and derivates (100 ppm solution) as influenced by addition of DL-serine. Cucumber seedling test.

Invloed van DL-*serine op de werkzaamheid van carbamaten en verwante verbindingen in de komkommerkiemplantentoets.*

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in* %	
	Without serine *Zonder* „	With DL-serine 0.25 *Met* „
Control (water)	100	50
S-carboxymethyl-N,N-dimethyldithiocarbamate (Carboxymethyl-DDC)	95	68
Sodiumdimethyldithiocarbamate (NaDDC)	69	3
Tetramethylthiurammonosulfide (TMTM)	100	14
Tetramethylthiuramdisulfide (TMTD)	86	5
S-(2-carbamoylpropyl-2)-N,N-dimethyldithiocarbamate	100	156
S-(2-carboxypropyl-2)-N,N-dimethyldithiocarbamate.	95	86
N,N-dimethyldithiocarbaminylglycolic acid	100	99

Some of the compounds were barely soluble; in that case a suspension containing 10 mg per 100 ml (100 ppm) was used. The effect of carboxymethyl-DDC, which is very variable, was extremely slight in this experiment; furthermore only NaDDC gave some protection. However, NaDDC as well as TMTD and TMTM when added in combination with DL-serine, gave a surprisingly good result. In contrast to the other four compounds, NaDDC, TMTD and TMTM are good fungicides. S-carbomethoxy-N,N-dimethyldithiocarbamate and bis (N,N-dimethyldithiocarbamyl) acetic acid, which have also fungicidal activity, caused also an increase in the effect of DL-serine. Application of NaDDC

in combination with DL-threonine and L-threo-β-phenylserine gave similar results. Again the D-forms of serine and threonine were active, while the L-isomers had hardly any influence. The question was now whether it was a specific effect of amino acids with dithiocarbamates or whether a more general phenomenon was involved. Some fungicides of different chemical composition were used with DL-serine in the cucumber test. They were phygon (2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone) captan (N-trichloromethylthio-tetrahydrophtalimide) nabam (disodiumethylene bisdithiocarbamate) and 8-hydroxyquinoline. The results were less evident than those given in table 6. Presumably the strong phytotoxicity of these compounds plays a part here; the experiments with nabam and hydroxyquinoline allowed of no conclusions for that reason, the others point to a stronger effect (table 7). Again, similar results were obtained whether the solutions were applied to the roots or to the cotyledons. In a few experiments the roots were cut off and the hypocotyls placed in the solutions. In that case also DL-serine gave some protection against *Cladosporium cucumerinum*, which could be increased by adding NaDDC to the medium. It was remarkable that in the presence of DL-serine in the medium the fungicides were phytotoxic in a lower concentration than when they were used alone.

TABLE 7. Result of addition of DL-serine on the activity of phygon and captan. Cucumber seedling test.
Effect van DL-*serine op de werkzaamheid van phygon en captan in de komkommerkiemplantentoets.*

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*	
	Without DL-serine *Zonder* ,,	With DL-serine (0.25 %) *Met* ,,
Control (water)	100	58
Phygon 20 ppm	72	3
Phygon 50 ppm	72	*
Captan 10 ppm	90	25
Captan 25 ppm	100	20
Captan 50 ppm	100	*

* Phytotoxic.

Duration of the protection. From the above experiments in which the inoculation was always carried out after the treatment with the various compounds, it is clear that there must be some after effect. This was investigated more closely in an experiment whereby plants were inoculated not directly after the treatment but after they had first stood in water for a few days. Such an experiment is presented in table 8. It appeared that even when the inoculation took place a week after the treatment no decrease of the protective effect could be established.

Curative effect. As was mentioned above we mostly applied the compounds to the plants before the inoculation took place. In some experiments the seedlings were first inoculated and only 24 hours later they were sprayed with solutions of DL-serine or DL-serine and NaDDC. This gave a marked protection: the plants treated with DL-serine (0.25 %) showed a disease index of 56 % of that of the control; when treated with DL-serine combined with NaDDC the disease index amounted to 46 % of that of the control; spraying after 48 hours or longer had no effect. If the plants were not sprayed but placed with the roots

TABLE 8. Duration of protective effect. Inoculation 0, 3, 5 and 7 days after treatment Cucumber seedling test.

Duur van de beschermende werking. Inoculatie 0, 3, 5 en 7 dagen na de behandeling. Komkommerkiemplantentoets.

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*				
	0	3	5	7	Days after treatment *Dagen na behandeling*
Control (water)	100	100	100	100	
NaDDC, 50 ppm	83	105	83	93	
DL-serine, 0.25%	58	50	44	64	
DL-serine, 0.25% NaDDC, 50 ppm	39	35	31	29	

in the solutions, a favourable effect was obtained only when this took place immediately after the inoculation. In this case the active substances must be transported first to the inoculated parts.

Cucumber plants. Plants with several leaves were either placed with the roots in solutions of DL-serine or the above-ground parts were sprayed with these solutions while the plants grew in soil. In both cases the severity of the disease decreased under the influence of the treatment. This is demonstrated in table 9: six plants were sprayed with various solutions, twice a day, during two days. Inoculation took place 18 hours after the last treatment.

TABLE 9. Effect of spraying the leaves of cucumber plants with DL-serine and NaDDC.

Effect van bespuitingen met DL-serine en NaDDC bij komkommerplanten.

	Severity of disease in % *Mate van aantasting* in %	
	Without NaDDC *Zonder* „	With NaDDC (100 ppm) *Met* „
Control (water)	100	93
DL-serine 0.25%	66	47

When using more concentrated solutions of DL-serine, we obtained better results even without adding NaDDC. However, the treated plants were lagging behind in growth as compared with the control.

Also in this case a curative effect could be established. Plants were inoculated and kept under moist conditions for 24 hours. The next 24 hours they were sprayed with different solutions. Treatment with water and NaDDC did not influence the severity of the disease; treatment with solutions of DL-serine and NaDDC produced a pronounced decrease (fig. 3 and 4). DL-serine was again used in a suboptimal concentration, which accounts for its slight effect. If the treatment took place about 48 hours after inoculation, there was hardly any effect.

The influence of these amino acids on the susceptibility was also studied in some other plants.

Broad beans. The plants were placed with their roots in solutions of DL-serine for two days and then inoculated with *Botrytis fabae*. The number of spots on the leaves appeared to decrease as a result from a treatment with

0.25 % DL-serine, while relatively more small and fewer large spots were found (table 10). Enhancing the concentration to 0.5 % or more had little effect. A complete protection was obtained in none of the treatments.

TABLE 10. Protection of broad beans against *Botrytis fabae*, resulting from treatment with amino acids.
Bescherming van tuinbonen tegen Botrytis fabae *door behandeling met aminozuren.*

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*
Control (water)	100
DL-serine 0.25 %	25
DL-threonine 0.25 %	37
Glycine 0.25 %	113

In this case a far smaller number of amino acids was tested than in the case of cucumber seedlings. DL-aspartic acid, DL-glutamic acid, L-asparagine, L-glutamine, DL-alanine, glycine, DL-methionine and DL-phenylalanine gave negative results as was also found in the cucumber seedling test. Adding carboxymethyl-DDC to the solutions did not influence the effect of DL-serine in contrast to the results obtained with cucumbers.

Tomato plants. In the same manner we investigated how far the resistance of tomato plants against *Phytophthora infestans* was affected by a previous treatment with amino acids. In some experiments the plants were placed with the roots in a solution. However, this presented practical difficulties. In other experiments the above-ground parts were sprayed with a solution of amino acids. The plants were more easily injured than in the case of cucumber or broad beans, so that solutions of 0.10 or 0.05 % DL-serine had to be used. Even then sometimes small necrotic spots appeared on the leaves. However, no growth inhibition was found.

TABLE 11. Effect of DL-serine and DL-serine and NaDDC on the infection of tomato plants with *Phytophthora infestans*. Solution sprayed on the leaves.
Effect van DL-*serine en* DL-*serine met NaDDC op de aantasting van tomaten door* Phytophthora infestans. *Bladeren bespoten met de oplossingen.*

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*	
	Without NaDDC *Zonder „*	With NaDDC (100 ppm) *Met „*
Control (water)	100	118
DL-serine 0.05 %	70	46

The plants, of the experiment mentioned in table 11 were sprayed twice a day during two days, and inoculated one day after the last treatment. Both DL-serine and DL-serine with NaDDC appeared to decrease the susceptibility of the plants. It is remarkable that such an effect could be obtained at such a low concentration.

Carboxymethyl-DDC had no effect in this case. Other fungicides were not investigated; the effect of DL-threonine and L-threo-β-phenylserine was not investigated either. However it did appear that DL-alanine in a concentration of 0.10 % had some influence: the severity of disease was reduced to 64 %. It is

not impossible that some other amino acids will have a more specific influence than DL-serine which appears to be active in several plant-pathogen combinations. In this connection the investigations of KUĆ et al. (1957) on the protective influence of DL-phenylalanine in apples should be remembered.

Experiments with histidine. Histidine occupies a separate place in group A both as concerns structure and activity. Its effect was weaker and much more irregular than that of the amino acids of the serine group. In addition its effect was not influenced by adding fungicides. Because of its fitful results only few experiments were conducted with DL-histidine (table 2). It should be mentioned that D-histidine was active, and L-histidine was not active.

B. Amino acids of the glycine group

In the foregoing it was recorded that the influence of DL-serine or DL-threonine could be increased by combining them with a fungicide. This induced us to reinvestigate the effect of the amino acids which so far had proved to be inactive, in combination with NaDDC in the cucumber seedling test (table 1). Apart from the amino acids already discussed glycine and DL-alanine also exerted a marked influence under such circumstances (fig. 5, table 12).

Glycine and DL-alanine have the formula $COOH.CHNH_2R$, in which R may be substituted by H or CH_3. DL-β-alanine appeared to be phytotoxic. DL-phenylalanine had no effect in contrast to L-threo-β-phenylserine of group A. Nor was an influence found of the amino acids with a longer chain or a ring structure, such as aminobutyric acid, valine, leucine, proline and their isomers. As in the serine-group there was a marked difference in activity between the optical isomers, D-alanine had a far greater effect than L-alanine (table 12). Glycine is optically inactive.

TABLE 12. Effect of glycine and DL-alaninewith and with out NaDDC. Cucumber seedling test.
Effect van glycine en DL-alanine met en zonder NaDDC. Komkommerkiemplantentoets.

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*	
	Without NaDDC *Zonder* „	With NaDDC (100 ppm) *Met* „ „
Control (water)	100	86
Glycine 0.25%	96	7
DL-alanine 0.25%	100	21
D-alanine 0.25%	84	14
L-alanine 0.25%	93	63

Of the compounds that are active together with glycine and DL-alanine bis-dimethyldithiocarbamylacetic acid and phygon should be mentioned, apart from NaDDC mentioned above. Table 13 illustrates the effect in combination with phygon. Only with 50 ppm there is a pronounced effect.

Intake through the cotyledons gave a result comparable with uptake by the roots, while the effect was also obtained when for instance NaDDC was applied to the cotyledons and the amino acid to the roots.

Related compounds. Apart from the amino acids mentioned above also compounds derived from glycine and alanine were tested, among others some dipeptides. Sarcosine yielded a remarkably good result. Combined with NaDDC

TABLE 13. Effect of combinations of glycine or DL-alanine with phygon. Cucumber seedling test.
Effect van glycine en DL-*alanine met phygon. Komkommerkiemplantentoets.*

	Severity of disease in % *Mate van aantasting in %*		
	Without phygon *Zonder* ,,	With phygon *Met* ,,	
		20 ppm	50 ppm
Control (water)	100	65	75
DL-alanine 0.25%	95	95	47
Glycine 0.25%	100	72	47

50 ppm a 0.10 or 0.05 % solution could reduce the severity of disease to 12 % of the control. In higher concentrations it was phytotoxic. Complete methylation of the amino group reduced the activity; betaine was not active in non-phytotoxic concentrations.

The dipeptides glycylglycine, DL-alanylglycine and glycyl-DL-phenylalanine were also tested, either combined with NaDDC or separately. The first two compounds showed a protective effect but only in combination with NaDDC, the latter being inactive even then, as was also diketopiperazine.

Experiments with other plants. Data on the activity of these amino acids in other plants are still scarce. In broad beans glycine and DL-alanine were inactive, both when applied separately and in combination with NaDDC. This negative result is comparable with that of DL-serine which, when added with NaDDC, did not produce an increased effect either. In tomatoes things were different again, the resistance somewhat increased even when only DL-alanine was applied. It could not yet be established with certainty whether the addition of NaDDC exerted a further influence.

C. Amino acids showing no or a very slight activity

The greater part of the amino acids had no or hardly any effect when they were applied to the roots prior to inoculation. It should be left an open question whether or not they were taken up. As DL-phenylalanine was inactive the results obtained by KUĆ et al. were not confirmed in the plants we tested. A number of amino acids such as DL-α and DL-β-aminobutyric acid, DL-α and DL-β-aminoisobutyric acid, DL-proline, hydroxyproline, DL-norvaline and D-leucine, were harmful to the plants also in low concentrations, to such an extent that the estimation of the disease index became difficult. As a result of the uptake of DL-dioxyphenylalanine the hypocotyls turned black, which also hampered the assessment. Some amino acids such as DL-aspartic acid, and DL-methionine appeared to cause occasionally a decrease in the susceptibility to a slight extent, it is true, but their effect was always far smaller than that of the amino acids of the groups A and B. The experiments were carried out using as much as possible racemates, but in some cases only D- or L-isomers were available. As has been stated above, in the active compounds the D-form is more effective than the L-form, so that negative results obtained with the latter have little value. Threo-β-phenylserine only forms an exeption; the D-form, however, has not been investigated.

The protective effect of some amino acids described above could be explained in the easiest way by assuming that these amino acids are fungitoxic. In the literature some examples are known of growth inhibition of fungi in vitro by amino acids. According to ALTEN & ORTH (1941) the germination of sporangia of *Phytophthora infestans* was inhibited by aspartic and glutamic acids, arginine and some other compounds, but histidine, glycine, hydroxyproline and a few others proved to have a stimulating effect in concentrations of 1 to 0.01 %. ROBBINS & MA (1945) and ROBBINS & MCVEIGH (1946), on the other hand, found, that hydroxyproline inhibited the growth of *Trichophyton mentagrophytes* and some related fungi. However, in general merely the suitability of amino acids as a source of nitrogen or carbon has been investigated. LEONIAN & LILLY (1938) showed that serine could be utilized by a number of fungi; this was confirmed by STEINBERG (1942) and GOTTLIEB (1946). DEDIC-KOCH (1957) established that DL-threonine was a relatively good source of nitrogen for *Cladosporium* n.sp.; histidine could not be utilized, but this held both for D- and L-histidine. NEWTON (1957) found that *Phytophthora parasitica* did not grow in nutrient solutions containing D-alanine, or D-leucine as a source of nitrogen, while L-leucine allowed but little growth. The fungus grew well in solutions containing glycine or L-alanine. However, in these experiments no other source of nitrogen was present so that it cannot be concluded whether an inhibitory action was involved or that the fungus was not able to utilize these compounds.

We investigated the influence of serine and a few other amino acids on the growth of *Cladosporium cucumerinum* and *Aspergillus niger* in the following ways.

Disks of filter paper were soaked in concentrated solutions of amino acids and placed on agar plates seeded with conidia. Use was made of 10, 5, 2.5 and 1 % solutions of DL-serine, DL-threonine, DL-histidine, L-glutamic acid and DL-aspartic acid. In none of the experiments an inhibition zone was observed round the disks. A number of concentric zones appeared, caused by more or less abundant mycelial growth and differences in sporulation. Presumably this phenomenon is due to differences in nitrogen concentration and not to a specific effect of the amino acids, since the same result was obtained when NH_4NO_3 and KNO_3 solutions were used, but not when the disks were immersed in solutions of glucose or sucrose. The germination of the conidia was not inhibited either when the agar was mixed with 0.25, 0.10, or 0.05 % amino acid. The above experiments were only concerned with an inhibiting effect of the amino acids on spore germination. There remained a possibility, however, that mycelial growth would be inhibited in the long run. *Cladosporium cucumerinum* was therefore grown in a nutrient solution containing glucose, sodium citrate and anorganic salts, to which DL-serine had been added in various concentrations from 0 to 1 %. After three weeks the dry weight of the mycelium produced was determined. It showed an increase at higher serine concentrations; but no harmful effect could be established.

In these experiments always DL-serine was used. As in the cucumber test, however, the D-form was active, its influence on mycelial growth was investigated in another experiment. D-serine was added to agar plates, containing

glucose, yeast extract and anorganic salts, among which KNO_3. A piece of mycelium of *Cladosporium cucumerinum* was grafted in the centre of each plate. The plates were kept at 23 °C. and the diameter of the colonies was measured daily. D-serine in a concentration of 0.05 % did hardly influence mycelial growth, but the fungus showed little sporulation. Lower concentrations did not seem to have any influence; higher concentrations caused a gradual decrease in growth rate, 0.40 % not allowing any growth at all. *Aspergillus niger* showed a similar sensitivity to D-serine, but the growth of *Fusarium oxysporum* was hardly diminished even by the presence of 0.40 % D-serine. L-serine proved to have no harmful influence. It is remarkable that the toxic effect of D-serine seems to be counteracted by the L-form, DL-serine not being toxic in the concentrations tested.

The influence of DL-serine and glycine in combination with fungicides was also investigated in vitro. Potato-glucose agar mixed with carboxymethyl-DDC was seeded with *Cladosporium* conidia and a filter paper disk, soaked in a 10, 5, 2.5 or 1 % solution of DL-serine or glycine, was placed on the agar. No inhibition of the germination could be observed.

The influence of amino acids and fungicides on the mycelial growth was investigated again by measuring the linear growth on agar plates, containing DL-serine or glycine and NaDDC, TMTM or TMTD in various concentrations from 0.1–10.0 ppm. The growth inhibition caused by the fungicides did not appear to be influenced by the presence of these amino acids. The influence of D-serine was not investigated separately.

DISCUSSION

In the foregoing we have demonstrated that the susceptibility of cucumber plants to *Cladosporium cucumerinum* decreased when prior to or shortly after inoculation certain amino acids were applied to the plants. The active amino acids could be grouped into two categories, viz. those which were effective by themselves, and whose activity could be increased by the application of a fungicide at the same time, in particular a thio- or dithiocarbamate; and those which had an influence only in combination with such a fungicide. These results could be confirmed in some other plant-pathogen combinations.

The expressions "reduction of the severity of disease", "decreased susceptibility", "increase in resistance" etc. have been used alternatively. These were intended only to describe the phenomena observed. At the moment it is difficult to give an explanation of the results obtained. We must therefore restrict ourselves to a discussion of the various possiblities.

It should be mentioned first that the serine content of cucumber seedlings, which had stood in a solution of DL-serine, appeared to increase greatly. The same held for DL-threonine and glycine; it has not been investigated for other amino acids. It may therefore be assumed that at any rate the amino acids mentioned are taken up as such.

As far as the activity of the amino acids of group A is concerned, there are the following possibilities. 1. The amino acids affect the metabolism of the plant in some way resulting in an increase in the resistance without there being a direct toxic effect on the fungus. 2. The amino acids exert a direct toxic influence on the parasite in the plant. 3. The amino acids are either themselves converted into

a fungitoxic compound or they influence the metabolism of the plant in such a way that a fungitoxic compound is produced.

Too little is known about the causes of resistance and susceptibility to comment much on the first statement. In connection with the importance of serine as a methyl group donor we used a number of compounds in the cucumber seedling test, of which is known that they can act in a similar way. However, xanthine, adenine, guanine nor uracil appeared to have an influence on the resistance. It stands to reason that this should not lead to the conclusion that the effect of serine is due to some other property. In the literature it is stated that the growth of seedlings is inhibited by various amino acids (AUDUS & QUASTEL, 1947; STEINBERG, 1949; FRIES, 1951; NEWTON, 1957). According to some authors (KEYWORTH & DIMOND, 1952; DAVIS & DIMOND, 1952) the resistance of tomatoes to *Fusarium oxysporum* increased as a result of mechanical or chemical injury of the roots. From table 1 it is apparent, that in various cases a phytotoxic effect was established, although at first sight there seemed to be little correlation between the toxic effect of the amino acids and their chemotherapeutic activity. In these experiments, however, we had no accurate way of measuring the harmful effect, so we conducted some preliminary experiments on the influence of amino acids on the root growth of cucumber seedlings. For this purpose, three-day old seedlings were used. By that time the cotyledons had not yet been developed. The plantlets were placed on filter paper which had been moistened with a certain volume of solutions of different amino acids. DL-serine, DL-threonine and DL-histidine indeed caused a strong inhibition of the growth of the main root. The D-isomer appeared to be the most active in this case, 0.01 M D-serine for instance gave an increase in length of 11 % of that of the control; L-serine (also 0.01 M) of 88 %. The effect of the D-form was counteracted slightly by the L-isomer, the DL-acids still showing a marked inhibitory action. These results are in contrast to those obtained with fungi. NEWTON (1947) obtained the same results in his investigation on the influence of alanine on the growth of wheat seedlings. However, we did not find a correlation between this growth inhibition and the resistance increasing effect of the amino acids. For instance, L-threo-β-phenylserine appeared to inhibit the root growth slightly, while DL-glutamic acid and D-alanine had this effect to a high degree. Addition of NaDDC did not increase the effect exerted by glycine or DL-serine. These results are not in agreement with the observations on the phytotoxic activity of the compounds as mentioned in table 1 and those described in the third section. This must be either a result of the different conditions or an entirely different effect may be involved here. At any rate it appears that this inhibition of root growth cannot be taken as the only criterium of the phytotoxic effect.

The second point was mentioned already in the previous section. In vitro a toxic effect could be demonstrated only when using D-serine in fairly high concentrations (0.005 M or more) without L-serine being present. However, as the conditions within the plant are quite different we cannot exclude this possibility.

In order to investigate the third possibility more closely a number of experiments was carried out, whereby plants were treated with amino acids in the usual way, thereupon they were rinsed, frozen and squeezed. Disks of filter paper were moistened with the sap thus obtained, dried at $\pm$ 30 °C., moistened again etc. until 0.5 ml sap had been added. This sap contained both vacuolar sap and protoplasm. The disks were then placed on agar plates seeded with

conidia of *Cladosporium cucumerinum*, *Aspergillus niger* or *Glomerella cingulata*. In several experiments (but not in all of them) in which sap of roots or hypocotyls of plants, treated with DL-serine had been used an inhibition zone could be observed. Sap of control plants never gave any inhibition. So it seems that under the influence of the treatment a fungitoxic substance can be produced in the plant. As this could not be shown in all the cases and since the inhibition was fairly small, it cannot be concluded that the decreased susceptibility of the plants is due to this or whether a secondary effect is involved. Similar experiments were also conducted with plants that had been placed in a solution of amino acids and fungicides (mainly NaDDC and TMTD). In this case a fungitoxic substance was always to be found in sap obtained from the roots; in sap derived from the hypocotyls it was found occasionally. However, it was conspicious that the inhibition, and apparently the concentration of the fungitoxic compound in the sap, was greater when the fungicide had been applied to the plants in combination with an amino acid (table 14). We have never found a fungitoxic effect in sap derived from cotyledons.

TABLE 14. Fungicidal action of expressed sap from plants, treated in solutions of glycine and glycine and NaDDC. Test fungus *Glomerella cingulata*.
Fungicide werking van perssap van planten, behandeld met glycine of glycine met NaDDC. Testschimmel Glomerella cingulata.

	Diameter inhibitionzone in mm *Diameter remmingszone in mm*			
	Plants treated with *Planten behandeld met*			
	Water	NaDDC (100 ppm)	Glycine (0.25 %)	NaDDC + Glycine (100 ppm) (0.25 %)
Cucumberseedlings (hypocotyls) .	–	–	–	18
Lupins (stems)	–	14	–	21

A few experiments were carried out using other plants. Sap of the stems of lupins, which had stood in a solution of glycine and NaDDC caused a larger inhibition zone than that of plants treated with NaDDC only (table 14). The same held true for the stems of French beans. Sap of the leaves of lupin, French beans, wheat and barley, stems and leaves of peas and broad beans gave negative results, after treatment of the plants via the roots.

When table 14 is considered the question arises whether the uptake and/or the transport of the fungicide might increase under the influence of glycine. VAN RAALTE (1952) demonstrated that NaDDC and TMTD, in contrast to TMTM, were not transported through a section of a potato petiole. When in the test used by VAN RAALTE a mixture of NaDDC and one of the active amino acids was used, no transport occurred either. Using sections of hypocotyls of cucumber seedlings, previously treated with DL-serine, we did not obtain a positive result either. It is likely, however, that this is a question of diffusion, so that this case is not directly comparable with transport through an intact plant.

In cucumber plants NaDDC seems to be taken up and transported upwards to some extent, even if its protective effect is but slight. It might be that this process was furthered by amino acids. The fact that in particular fungicides produced an effect in combination with serine etc. while related, but non-

fungitoxic compounds were inactive, might point in this direction. Carboxymethyl-DDC is an exception; as already stated, however, it is possible that here, too, a fungitoxic ion is produced. Reversely, fungicides of a different structure produced a similar effect. In addition the phytotoxicity of the fungicides increased in the presence of amino acids, which may be the result of an increased uptake. It should be mentioned that carbohydrates, such as glucose and sucrose, which might influence the uptake through the roots, had no effect. It is remarkable, however, that a good effect was obtained, when the fungicide was applied to the cotyledons and the amino acids to the roots. On the other hand, seedlings whose roots had been cut off, were also protected by DL-serine and NaDDC to a higher extent than when only DL-serine was applied. The latter seems an indication, that it must be a matter of an effect on the transport rather than on the actual uptake process.

According to this view the activity of the amino acids of group A is twofold: they have an increasing effect on the resistance and also influence the transport of various fungicides. The latter property is shared by the amino acids of group B.

On the other hand it is also imaginable that not the amino acids influence the effect of the fungicides, but that the latter influence the effect of the amino acids. The difference between the compounds of group A and B would be only a relative one in this case: that is, the effect of glycine and DL-alanine is too slight to be perceptible and it only becomes observable when it is being corroborated by the presence of, for instance, NaDDC. However, it is difficult to imagine how this corroboration may be brought about. It has been shown that zinc dimethyldithiocarbamate caused a change in the amino acid composition of leaves and roots of sugar beets (FULTS et al. 1951, BLOUCH et al. 1952). It is therefore possible that some conversions of serine etc. are being furthered or inhibited under the influence of NaDDC. It is less understandable, however, that the various fungicides have a similar effect. The process involved must have little specificity. In the second place it is possible, that the fungicides influence the uptake of the amino acids in some way. In this connection the work of BANDI (1957) should be mentioned. He found that the roots of peas took up more sucrose under the influence of streptomycine. Streptomycine appeared to cause an increase in the permeability of the tissue. According to REINHOLD & POWELL (1956) the uptake of glycine and glutamic acid in hypocotyls of sunflower seedlings was increased under the influence of indole-3-acetic acid. Carboxymethyl-DDC, as has been shown by VAN DER KERK et al. (1955) acts as a growth regulator. However, we obtained no results after adding indole-3-acetic acid to the medium, neither in case of applying it separately or in combination with amino acids or a fungicide.

This result is also important in connection with the investigations of DAVIS & DIMOND (1953), who found that tomatoes, treated with plant growth regulators showed an increased resistance to *Fusarium oxysporum*, presumably as a result from changes in the metabolism of the plants.

A question which should be discussed in more detail is, that the D-isomers appeared to be more active than the L-forms. Various investigations have shown that optical isomers of amino acids have a different effect on plants. It has been mentioned already that NEWTON found a difference in phytotoxicity to wheat seedlings, D-alanine being toxic, while L-alanine proved to be a suitable source of nitrogen. This was confirmed in our own experiments. BIRT & HIRD (1956) established that carrot disks took up L-histidine more rapidly than D-histidine.

EL-SHISHINY & NOSSEIR (1957) obtained similar results with glutamic and aspartic acids. The relatively small uptake of the D-isomer could be one of the reasons, why comparatively high concentrations of the amino acids had to be applied. In the experiments of EL-SHISHINY & NOSSEIR it appeared also that D-glutamic acid was accumulated, while L-glutamic acid seemed to be assimilated rapidly. The ineffectiveness of L-amino acids in our experiments is possibly a result of their rapid conversion. L-threo-β-phenylserine was an exception: however, it is imagineable, that in this compound also the L-isomer is being assimilated less rapidly than in the case of serine and threonine, which play an active role in the metabolism. If this argument should be correct, it follows that serine etc. themselves are active and not a derivative.

It will be necessary to collect more data on the uptake of amino acids and their influence on the metabolism of plants before we will be able to formulate a hypothesis on their role in the increase in the resistance described.

SUMMARY

The influence of amino acids on the resistance of cucumbers to *Cladosporium cucumerinum* was investigated in seedlings and older plants. The majority of the amino acids tested appeared to have no effect; but treatment of the plants with DL-serine, DL-threonine, L-threo-β-phenylserine and DL-histidine before inoculation produced a marked decrease of the susceptibility of the plants. A further reduction could be obtained when these amino acids were applied in combination with a non- or somewhat systemic fungicide, in particular a thio- or dithiocarbamate.

Besides the four amino acids already mentioned also glycine and DL-α-alanine and some related compounds appeared to have a favourable effect when applied in combination with a fungicide. The D-isomers proved to be active, the L-isomers had little effect. In seedlings the protective effect could be maintained for about a week. It did not matter whether the compounds were applied to the roots or cotyledons, respectively leaves. Also when the treatment took place 24 hours after inoculation a considerable effect was demonstrated.

In some other plants, such as broad beans and tomato plants, various amino acids, in particular DL-serine, had a favourable effect against *Botrytis fabae* and *Phytophthora infestans* respectively. In the case of broad beans no marked influence was found by the application of a fungicide and amino acid at the same time; in tomatoes a favourable effect was obtained.

The influence of some amino acids on the growth of fungi in vitro was studied. In addition some experiments were conducted on the occurrence of fungitoxic compounds in sap of treated plants, and on the influence of several amino acids on the growth of cucumber seedlings.

SAMENVATTING

Naar aanleiding van een onderzoek van VAN RAALTE, KAARS SIJPESTEIJN, VAN DER KERK, OORT en PLUYGERS, waarbij gebleken was, dat het in vitro weinig fungicide S-carboxymethyldimethyldithiocarbamaat (carboxymethyl-DDC) een systemische werking had tegen *Cladosporium cucumerinum* bij komkommers, werd nagegaan, of de werking van deze verbinding beïnvloed werd door amino-

zuren. De meeste proeven werden uitgevoerd met de komkommerkiemplantentoets, waarbij kiemplantjes gedurende twee dagen in een oplossing van de te onderzoeken verbinding werden geplaatst, vervolgens overgebracht in water en geïnoculeerd. Daarnaast werden enkele proeven gedaan op komkommerplanten, waarbij zich enkele bladeren hadden ontwikkeld en die eveneens met *Cladosporium cucumerinum* werden geïnoculeerd. Als objecten werden verder gebruikt tuinbonen, geïnoculeerd met *Botrytis fabae*, en tomaten, geïnoculeerd met *Phytophthora infestans*. In deze gevallen werden de verbindingen als oplossingen of aan de wortels of door bespuiting aan de bladeren toegediend. Inoculatie had gewoonlijk na de behandeling plaats door bespuiting met een suspensie van conidiën respectievelijk zoösporen. De planten werden vervolgens in een vochtige ruimte gehouden tot bij de controle een duidelijke aantasting was opgetreden. De mate van aantasting van de behandelde projecten is aangegeven als percentage van de aantasting van de controle.

In de komkommertoets werd een groot aantal aminozuren onderzocht. Hierbij bleek, dat ze naar hun werking in drie groepen waren in te delen (tabel 1):

A. Aminozuren, die op zichzelf de vatbaarheid verminderden en waarvan de werking versterkt kon worden door toevoeging van carboxymethyl-DDC of een niet of weinig systemisch werkend fungicide als natriumdimethyldithiocarbamaat (NaDDC). B. Aminozuren, die op zich zelf geen invloed hadden op de vatbaarheid, maar wel in combinatie met een fungicide als NaDDC. C. Aminozuren, die op zichzelf toegepast of in combinatie met een dergelijk fungicide geen of slechts zeer geringe werking hadden.

Tot de eerste groep behoorden DL-serine, DL-threonine, L-threo-β-phenylserine en DL-histidine (tabel 2). Van de stereoisomeren was de D-vorm veel werkzamer dan de L-vorm (tabel 3). De werkzaamheid van deze verbindingen bleek niet terug te brengen op een functie als stikstofbron. Eenzelfde gunstig effect werd verkregen als ze aan de wortels of aan de cotylen werden toegediend (tabel 4), terwijl de beschermende werking een week na de behandeling nog niet bleek te zijn afgenomen (tabel 8). Over het algemeen werd een belangrijke reductie van de aantasting pas vastgesteld, als oplossingen van 0,5 tot 1 % werden gebruikt; werd daaraan echter carboxymethyl-DDC of NaDDC toegevoegd, dan waren concentraties van 0,25 tot 0,10 % voldoende (tabel 5 en 6; fig. 1 en 2). Andere fungiciden als captan en phygon bleken een dergelijk, zij het wat zwakker, effect te geven (tabel 7).

Bij oudere planten werd eveneens een gunstig effect verkregen door de wortels in oplossingen van DL-serine of DL-serine met NaDDC te plaatsen of de bladeren met deze oplossingen te bespuiten (tabel 9). Ook wanneer de planten 24 uur na de inoculatie hiermee werden bespoten kon de aantasting aanzienlijk verminderd worden (fig. 3 en 4). Bespuiting 48 uur na inoculatie had geen effect.

Bij tuinbonen, gedurende twee dagen in oplossingen van DL-serine of DL-threonine geplaatst en vervolgens geïnoculeerd, trad een vermindering van het aantal door *Botrytis fabae* veroorzaakte vlekken op (tabel 10). Toevoeging van NaDDC of een ander fungicide had hierop geen effect. Bij tomaten werd door bespuiting van de bladeren met oplossingen van DL-serine en DL-serine met NaDDC de aantasting gereduceerd tot respectievelijk 70 % en 46 % van de controle (tabel 11).

Tot groep B behoren glycine en DL-alanine. Met NaDDC of phygon gecombineerd gaven deze gunstige resultaten in de komkommertoets (tabel 12 en 13;

fig. 5); alleen of met carboxymethyl-DDC bleken ze echter vrijwel onwerkzaam. Hetzelfde geldt ook voor sarcosine en enkele dipeptiden als glycylglycine en DL-alanylglycine (tabel 1). Met aminozuren van deze groep werden slechts enkele proeven gedaan bij andere objecten. Bij tuinbonen werden geen positieve resultaten bereikt. Bij tomaten bleek DL-alanine alleen reeds een afname van de aantasting te veroorzaken.

De invloed van verschillende aminozuren op de sporenkieming, myceliumgroei en drogestof productie in vitro werd nagegaan bij *Cladosporium cucumerinum* en *Aspergillus niger*. Een concentratie van 1 % DL-serine bleek nog geen ongunstig effect te hebben. Bij aanwezigheid van alleen D-serine in het medium bleek de myceliumgroei wel te worden geremd, doch pas bij een tamelijk hoge concentratie.

In sommige gevallen kon in perssap van wortels en hypocotylen of stengels van behandelde planten een fungitoxische stof worden aangetoond (tabel 14). Of deze een rol speelt bij het beschreven effect op de aantasting der planten is nog niet te zeggen. Een verklaring van deze vermindering van de aantasting of verhoging van de resistentie kan nog niet gegeven worden, maar enkele mogelijkheden worden besproken.

REFERENCES

ALTEN, F. & H. ORTH, – 1941. Untersuchungen über den Aminosäurengehalt und die Anfälligkeit der Kartoffel gegen die Kraut- und Knollenfäule (Phytophthora infestans de By). Phyt. Z. 13: 243–271.

AUDUS, L. J. & J. H. QUASTEL, – 1947. Toxic effects of amino acids and amines on seedling growth. Nature 160: 222–223.

BANDI, P., – 1957. Experimentelle Untersuchungen über die combinierte Wirkung eines pflanzlichen Hormons (β-Indolessigsäure) und eines Antibioticum (Streptomycin) auf Pisumwurzeln und auf einige Gewebe. Diss. Bern.

BIRT, L. M. & F. J. HIRD, – 1956. The uptake of amino acids by carrot slices. Bioch. J. 64: 305–311.

BLOUCH, R., M. G. PAYNE & J. F. FULTS, – 1952/53. Free amino acids in sugarbeet leaves altered by zinc dimethyldithiocarbamate. Bot. Gaz. 114: 248–251.

DAVIS, D. & A. E. DIMOND, – 1952. Altering resistance to disease with synthetic organic chemicals. Phytopath. 42: 563–568.

DAVIS, D. & A. E. DIMOND, – 1953. Inducing resistance with plant growth regulators. Phytopath. 43: 137–140.

DEDIC-KOCH, G. A., – 1957. Über den Einfluss der essentiellen Aminosäuren auf Schimmelpilze. Phyton, int. J. exp. Bot. Argentina 9: 69–79.

EL-SHISHINY, E. D. H. & M. A. NOSSEIR, – 1957. The relation of optical form to the utilization of amino acids. I. Utilization of stereo-isomeric forms of glutamic acid by carrot root disks. Pl. Physiol. 32: 360–364.

EL-SHISHINY, E. D. H. & M. A. NOSSEIR, – 1957. The relation of optical form to the utilization of amino acids II. Utilization of stereo-isomeric varieties of aspartic acid and asparagine by carrot root disks. Pl. Physiol. 32: 639–642.

FAWCETT, C. H., D. M. SPENCER & R. L. WAIN, – 1955. Investigations on fungicides. I. Fungicidal and systemic fungicidal activity in certain aryloxyalkanecarboxylic acids. Ann. appl. Biol. 43: 553–568.

FRIES, N., – 1951. The influence of amino acids on growth and lateral root formation in cotyledon-less pea seedlings. Experientia: 378–379.

FULTS, J. L., M. G. PAYNE, J. O. GASKILL, R. L. HAC & A. C. WALKER, – 1951. Glutamic acid in sugar beets increased by zinc dimethyldithiocarbamate. Bot. Gaz. 113: 207–210.

GOTTLIEB, D., – 1946. The utilization of amino acids as a source of carbon by fungi. Arch. Bioch. 9: 341–351.

KERK, G. J. M. VAN DER, M. H. VAN RAALTE & A. KAARS SIJPESTEIJN, – 1955. A new type of plant growth-regulating substances. Nature 176: 308–311.

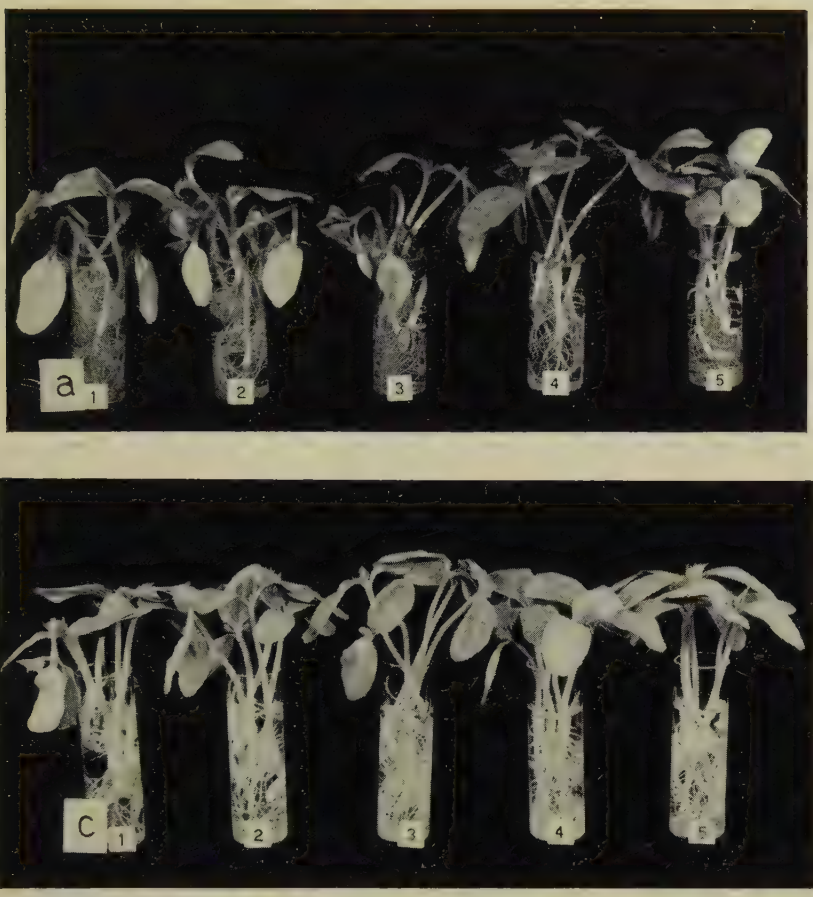


FIG. 1 and 2. Influence of DL-serine on the resistance of cucumber seedlings to *Cladosporium cucumerinum*.Concentrations of DL-serine used: from left to right 0, 0.10, 0.25, 0.50 and 1.00%. To all solutions used in fig. 2 100 ppm carboxymethyl-DDC had been added.

Invloed van DL-*serine op de resistentie van komkommerkiemplanten tegen* Cladosporium cucumerinum. *Concentratie van* DL-*serine: v.l.n.r. 0, 0,10, 0,25, 0,50 en 1,00%. Aan alle oplossingen van fig. 2 was 100 dpm carboxymethyl-DDC toegevoegd.*

FIG. 3 and 4. Cucumber plants sprayed with various solutions 24 hours after inoculation with *Cladosporium cucumerinum:* 5, water; 6, DL-serine 0.25%; 7, NaDDC 100 ppm; 8, DL-serine, 0.25% and NaDDC, 100 ppm.

Komkommerplanten 24 uur na inoculatie met Cladosporium cucumerinum *bespoten met verschillende oplossingen, n.l.: 5, water; 6,* DL-*serine, 0,25%; 7, NaDDC 100 dpm; 8,* DL-*serine 0,25% en NaDDC, 100 dpm.*

FIG. 5. Effect of glycine and NaDDC in the cucumber seedling test. Plants treated with: 100 ppm NaDDC (left), 100 ppm NaDDC and 0.25% glycine (middle), 0.25% glycine (right).

Effect van NaDDC en glycine in de komkommerkiemplantentoets. Planten behandeld met: 100 dpm NaDDC (links), 100 dpm NaDDC en 0,25% glycine (midden) en 0,25% glycine (rechts).

KEYWORTH, W. A. & A. E. DIMOND, – 1952. Root injury as a factor in the assessment of chemotherapeutants. Phytopath. 62: 311–316.
KLEIN, E. K., – 1956. Ueber den Einflusz der Mineralsalzernährung auf den Gehalt des Blattes an freien Aminosäuren und Monosacchariden und seine Bedeutung für die Empfanglichkeit der Pflanzen gegenüber parasitären Pilze. II. Untersuchungen über das Wachstum parasitärer Pilze in künstlichen und natürlichen Nährlösungen mit einer der verschieden ernährten Wirtspflanze entsprechenden Zusammensetzung. Jb. Bayer. Landw. 33: 224–241.
KUC, J. E., B. WILLIAMS & J. R. SHAY, – 1957. Increase of resistance to apple-scab following injection of host with phenylthiourea and d-phenylalanine. Phytopath. 47: 21–22.
LEONIAN, L. H. & V. G. LILLY, – 1938. Studies on the nutrition of fungi. I. Thiamin, its constituents and the source of nitrogen. Phytopath. 28: 531–548.
NEWTON, W., – 1957. The utilization of single organic nitrogen compounds by wheat seedlings and by Phytophthora parasitica Can. J. Bot. 34: 445–448.
RAALTE, M. H. VAN, – 1952. A test for the translocation of fungicides through plant tissues. C. R. III. Congr. int. Phytopharm. 2e part: 76–78.
RAALTE, M. H. VAN, A. KAARS SIJPESTEIJN, G. J. M. VAN DER KERK, A. J. P. OORT & C. W. PLUYGERS, – 1955. Investigations on plant chemotherapy. Med. Landbouwhogesch. Gent 20: 543–555.
REINHOLD, L. & R. G. POWELL, – 1956. A stimulatory action of indole-3-acetic acid on the uptake of amino acids by plant cells. Nature 177: 658–659.
ROBBINS, W. J., – 1951. Vitamin and amino acid requirement for the growth of higher plants. Plant Grotwh Substances, Univ. Wisc. Press.
ROBBINS, W. J. & R. MA, – 1945. Growth factors for Trichophyton mentagrophytes. Am. J. Bot. 32: 509–523.
ROBBINS, W. J. & I. MCVEIGH, – 1946. Effect of hydroxyproline on Trichopyton mentagrophytes and other fungi. Am. J. Bot. 33: 638–647.
STEINBERG, R. A., – 1942. Effect of trace elements on growth of Aspergillus niger with amino acids. J. agr. Res. 64: 455–475.
STEINBERG, R. A., – 1947. Growth responses to organic compounds by tobacco seedlings in aseptic culture. J. agr. Res. 75: 81–92.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 328–332

OVER DE INVLOED VAN DE WINTER OP DE PARASITERING VAN DE APPELBLOEDLUIS, *ERIOSOMA LANIGERUM*, DOOR HAAR PARASIET *APHELINUS MALI*[1])

With a summary: The influence of the winter on the parasitism of the woolly aphid, Eriosoma lanigerum, *by its parasite* Aphelinus mali

DOOR

H. H. EVENHUIS

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Het is een bekend feit, dat lage wintertemperaturen een grotere invloed hebben op de sterfte van de appelbloedluis (*Eriosoma lanigerum* (HAUSM.)) dan op die van haar parasiet (*Aphelinus mali* (HALD.))(EVENHUIS, 1958). Dat dit eigenaardige gevolgen met zich meebrengt, blijkt duidelijk uit het verloop van de parasitering van de bloedluis in de jaren 1956 (na een bijzonder strenge winter) en 1957 (na een bijzonder zachte winter).

In het algemeen begint de activiteit van de bloedluis in ons land na de winter weer in de tweede helft van maart; dan gaan de jonge luizen, die overwinterd hebben, weer was afscheiden. Op takken, die in de voorgaande herfst duizenden individuen van alle ontwikkelingsstadia bevatten, zijn dan in de regel nog slechts enkele levende individuen in het eerste larvestadium te vinden. De grote sterfte gedurende de winter wordt veroorzaakt door lage temperatuur en door afslag tengevolge van regen, hagel, enz.

De bloedluisparasiet is veel beter bestand tegen lage wintertemperaturen; dat er in het vroege voorjaar slechts weinig beparasiteerde (gemummificeerde) bloedluizen te vinden zijn, moet hoofdzakelijk worden toegeschreven aan het feit, dat in de winter ook een groot gedeelte van deze gemummificeerde bloedluizen door mechanische afslag verloren gaat. De gemummificeerde luizen zitten met hun buikzijde aan de stam en de takken van de appelboom vastgekit, terwijl de levende bloedluizen slechts door hun monddelen aan het substraat bevestigd zijn.

In het algemeen treffen de vrouwelijke parasieten, die in de loop van mei in het veld verschijnen, betrekkelijk weinig waarddieren aan; daardoor komt in deze periode vaak een hoge parasitering voor. De parasieten verschijnen slechts over een vrij korte periode en hebben gemiddeld een korte levensduur. De ontwikkelingsduur van pas gelegd ei tot volwassen dier is echter betrekkelijk lang; daardoor duurt het geruime tijd voordat de wespjes van de tweede generatie van de parasiet in het veld verschijnen.

De parasitering (bepaald aan het aantal levende bloedluizen met eieren en/of larven van de parasiet) moet na het verdwijnen van de sluipwespen van de eerste generatie dus snel en sterk dalen. Door de veel grotere vermeerderingscapaciteit van de bloedluis, die zich van eind april of begin mei af ononderbroken vermeerdert, is het voor de parasiet dan voorlopig onmogelijk om een hoge parasitering te veroorzaken. Pas in de nazomer wordt in de regel weer een

[1]) Aangenomen voor publikatie 5 juni 1958.

hoge parasitering bereikt; dit is echter indirect een gevolg van de toestand van de voedselplant – die dan minder gunstig is voor de bloedluis, waardoor een daling van de populatiedichtheid van de bloedluis optreedt – en niet in de eerste plaats het gevolg van de activiteit van de sluipwesp. Later in het seizoen neemt de parasitering weer af; de volwassen larven van de parasiet gaan dan in diapause, zodat er geen wespjes meer verschijnen.

Tussen de beide hoge toppen van parasitering, respectievelijk in het begin van het seizoen en in de nazomer of herfst, kunnen nog één of twee kleinere toppen optreden, die in verband kunnen worden gebracht met het optreden van de wespjes van de tweede en eventueel derde generatie van de parasiet. Deze generaties zijn in dat geval dus nog min of meer scherp gescheiden.

In februari 1956 trad een zeer felle koude op; in de Bilt werd op 16 februari zelfs een minimumtemperatuur van –22 °C gemeten. JANCKE (1935), EHRENHARDT (1939) en KJELLANDER (1953) hebben de invloed van lage temperaturen op de sterfte van de bloedluis in de winter onderzocht. Hoewel hun resultaten onderling niet precies overeenstemmen, bleek toch dat een temperatuur van –25 °C gedurende enkele uren voldoende is om alle overwinterende bloedluizen te doden. Door de vorming van ijs in de bloedluiskolonies zou de gevoeligheid van de luizen voor koude nog aanmerkelijk worden vergroot. Het is dus begrijpelijk, dat de bloedluis in het voorjaar van 1956 op vele plaatsen, o.a. in Zeeland (BEEKE & DE JONG, 1956) en in Wageningen (EVENHUIS, 1956) geheel of zo goed als geheel verdwenen was. In Wageningen werden bij een onderzoek in juni nog geen levende bloedluizen gevonden.

De bloedluisparasiet bleek echter met succes te hebben overwinterd. Van 1000 gemummificeerde bloedluizen met overwinterende larven van *Aphelinus mali* leverden er 482 (dus evenals in de voorgaande jaren ongeveer 50 %) tussen 16 mei en 12 juni een imago van de parasiet op (99 % tussen 19 en 28 mei). Deze hadden op dat ogenblik dus geen of vrijwel geen waarddieren voor parasitering tot hun beschikking en moesten derhalve alle of vrijwel alle sterven zonder de kans te hebben gehad om zich voort te planten.

Bij een onderzoek, dat in het najaar werd ingesteld, bleken echter bloedluizen en parasieten weer in geringe mate aanwezig te zijn; in het monster van 5 oktober bleek 15 % van de bloedluizen beparasiteerd te zijn. Uit deze laatste waarneming moet worden geconcludeerd, dat ook in het vroege voorjaar een geringe populatie van de bloedluis aanwezig is geweest; deze is aan onze aandacht ontsnapt, doch is voor de parasiet voldoende geweest om zich te handhaven. In fig. 1 is het verloop van de parasitering in oktober en november 1956 in een bepaalde boomgaard in een grafiek weergegeven; daaruit blijkt, dat de parasitering snel daalde tot 3 à 4 %. Slechts een geringe hoeveelheid parasieten overwinterde.

De winter van 1956/1957 was buitengewoon zacht; de laagste temperatuur in De Bilt werd in deze periode waargenomen op 18 januari; zij bedroeg –7 °C. Vanzelfsprekend had deze zachte winter grote invloed op het overleven van de appelbloedluis. Hoewel de populatiedichtheid in het najaar van het vorige seizoen gering was, was de sterfte, die in normale winters zeer groot is, nu betrekkelijk gering, zodat toch een groot aantal bloedluizen van verschillende stadia de winter doorkwam. Op 8 maart werd reeds de eerste wasafscheiding op

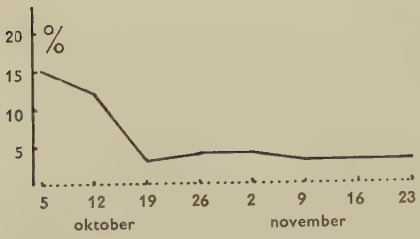


FIG. 1. Verloop van de parasitering in 1956, Wageningen.
Course of parasitism in 1956, Wageningen.

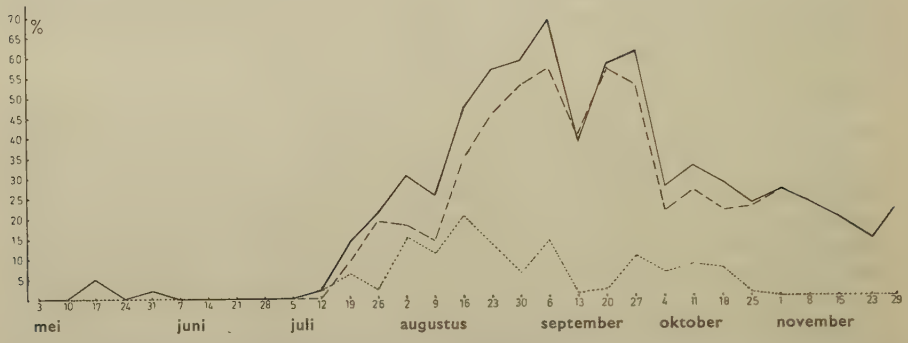


FIG. 2. Verloop van de parasitering in 1957, Wageningen.
Op elke datum van bemonstering werden 100 levende bloedluizen (10 luizen van ieder van 10 proefbomen) op de aanwezigheid van eieren en larven onderzocht.
Course of parasitism in 1957, Wageningen.
On each date of sampling 100 living woolly aphids (10 aphids from each of 10 trees) were examined for eggs and larvae of the parasite.

..... eieren/*eggs*
- - - - - larven/*larvae*
——— beparasiteerde bloedluizen/*parasitised woolly aphids*

de luizen, die overwinterd hadden, waargenomen (in de voorgaande jaren vrijwel nooit vóór de tweede helft van maart). Uit de tabel blijkt, dat de verhouding van het aantal parasieten tot het aantal waarddieren aan het begin van het seizoen zeer ongunstig uitviel voor de parasiet. De populatiedichtheid van de parasiet was veel kleiner dan in de voorgaande jaren, terwijl dit bij de bloedluis niet het geval was.

Het verloop van de parasitering, dat in fig. 2 is weergegeven, kan hierdoor goed worden verklaard. De parasiteringstop in het vroege voorjaar, welke verband houdt met het uitkomen van de eerste generatie en welke in de voorgaande jaren vaak hoog was (1951: 55 % op 23 mei; 1952: 57 % op 14 mei; 1953: 17 % op 20 mei; 1954: 71 % op 26 mei; 1955: 8 % op 31 mei en 8 juni), trad in het voorjaar van 1957 niet op; slechts op 17 en 31 mei werd een zeer geringe parasitering van respectievelijk 5 % en 2 % waargenomen.

In het najaar van 1956 konden niet voldoende gemummificeerde bloedluizen verzameld worden voor de bepaling van de periode van uitkomen van de wespjes in het voorjaar van 1957. Toch is het met het oog op de waarnemingen van de voorgaande jaren duidelijk, dat de (lage) parasitering in mei in verband moet staan met het uitkomen van de sluipwespen van de generatie, die als volwassen larve overwinterd had.

TABEL 1. Populatietellingen bij bloedluis en bloedluisparasiet aan het begin van het seizoen.
Population counts of Eriosoma lanigerum *and* Aphelinus mali *at the beginning of the season.*

Datum van bemonstering *Date of sampling*	Totale lengte van de onderzochte takken *Total length of branches investigated*	Aantal levende bloedluizen *Number of living woolly aphids*	Aantal gemummificeerde bloedluizen met levende parasiet *Number of mummified woolly aphids with a living parasite*	Verhouding van het aantal parasieten tot het aantal bloedluizen *Ratio of the number of parasites to the number of woolly aphids*
13/4/1954 . . .	7 m	100	371	3,71
26/4/1954 . . .	10 m	100	258	2,58
25–28/3/1955 .	20 m	100	95	0,95
4–7/5/1956 . .	20 m	0	100	∞
9/3/1957 . . .	6 m	100	2	0,02

Het is opmerkelijk, dat van 7 juni tot en met 5 juli geen parasitering werd waargenomen; toch moeten in deze periode sluipwespen van de tweede generatie aanwezig zijn geweest. De stijging van de parasitering na 5 juli moet weer verband houden met het feit, dat de toestand van de voedselplant toen minder gunstig werd voor de vermeerdering van de bloedluis. Op 6 september werd de hoogste parasitering, nl. 68 %, waargenomen; de parasiet had toen dus zijn aanvankelijke achterstand volledig ingehaald.

De waarnemingen over 1956 en 1957 bewijzen duidelijk, dat *Aphelinus mali* zich in ons land volledig heeft ingeburgerd; er behoeft niet te worden gevreesd, dat de parasiet tengevolge van het vrijwel ontbreken van zijn waard zal uitsterven. Daarentegen is gebleken dat *Aphelinus mali* onder dergelijke ongunstige omstandigheden zijn populatiedichtheid na een betrekkelijk korte tijd weer kan herstellen tot het normale niveau.

SUMMARY

In the Netherlands the winter of 1955/56 was very severe and the winter of 1956/57 very mild. The woolly aphid, being much more susceptible to low temperatures than its parasite, these two winters had remarkable consequences for the parasitism in the summers, following these winters. This is demonstrated by the graphs of fig. 1 and 2 and by table 1.

In 1956 almost all woolly aphids were killed by the severe frost in February. In the autumn a small infestation by the woolly aphid was observed and also a low rate of parasitism. As a result of the mild winter of 1956/57 relatively many aphids survived. At the beginning of the season of 1957 the ratio parasites to aphids was also very low. Hence the influence of the first generation of *Aphelinus mali* in May was hardly observed (in the preceding years there was very marked parasitism in this period). In the summer of 1957, however, the parasite recovered completely with respect to its host, the woolly aphid, and in September a parasitism of 68 % was reached.

LITERATUUR

BEEKE, H. & D. J. DE JONG, – 1956. Hoe staat het met de appelbloedluis, na de strenge winter van 1955–1956? Fruitteelt 46:438–439.

EHRENHARDT, H., – 1939. Experimentelle Untersuchungen und Freilandbeobachtungen über den Einfluss von Kälte und Eis auf die Blutlaus. Arb. physiol. angew. Ent. 6:257–285.

Evenhuis, H. H., – 1956. De appelbloedluis en haar parasiet na de strenge winter 1955/56. Meded. Dir. Tuinb. 19:404–406.
Evenhuis, H. H., – 1958. Een oecologisch onderzoek over de appelbloedluis, Eriosoma lanigerum (Hausm.), en haar parasiet Aphelinus mali (Hald.) in Nederland. T. Pl.ziekten 64:1–103.
Jancke, O., – 1935. Zur Kälteempfindlichkeit der Blutlaus. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. 15:46–47.
Kjellander, E. – 1953. Investigations on the biology of the apple woolly aphis together with some experiments on the control of the aphis (Zweeds met Engelse samenvatting). Statens Växtskyddsanst. Medd. 64.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 333–334

KORTE MEDEDELINGEN

SOME REMARKS ON THE VAN RAALTE TEST FOR THE TRANSLOCATION OF FUNGICIDES THROUGH PLANT TISSUES [1])

Met een samenvatting: Enkele opmerkingen over de VAN RAALTE-proef aangaande het transport van fungiciden in planteweefsels

BY

J. LINKS

Laboratory of Physiological Chemistry, University of Amsterdam [2])

In 1952 VAN RAALTE developed a method for studying the translocation of fungicides through plant tissues in a research program for systemic fungicides (VAN RAALTE, 1952, 1955). The fungicide was contained in a disc of wet filter paper on top of a 5 mm section from a potato petiole. The petiole section was placed with one end on a nutrient agar plate in a petri dish previously inoculated with conidia of *Penicillium italicum*.

2,4,6-Trichloro-phenoxyacetic acid and tetramethylthiuram monosulfide (TMTM) could apparently be translocated through the tissue of the petiole and diffuse through the agar where they caused a clear inhibition zone around the base of the petiole after three to four days.

Ethylene bisdithiocarbamate, dimethyl-dithiocarbamate (as sodium salts) and TMTD did not give an inhibition zone. The phenoxyacetic acid derivative gave inconsistent results. VAN RAALTE proved that TMTM is transported passively through the parenchyma of the petiole. He pointed out that no correlation between (water) solubility and "systemic" activity seems to exist, for the two dithiocarbamates were not translocated, while they are a hundred times more (water) soluble than TMTM which is always translocated.

The present author believes that this method gives only translocation with more or less lipoid-soluble fungicides. The walls of the parenchyma cells of the potato leaf stalk contain very probably a fair amount of lipoids (suberin, cutin) which cause lipoid-soluble substances (fungicides, fluorochromes etc.) that are introduced to spread rapidly, possibly by capillary forces, via the interphases of the intercellular spaces of the phloem parenchyma (ARISZ, 1953; VAN DEN HONERT, 1932; RICE & ROHRBACH 1953, 1955; SCHUMACHER, 1947; SCHUMACHER & HÜLSBRUCH, 1955; STRUGGER, 1949).

The two substances found translocatable in the VAN RAALTE test are lipoid-soluble and not very water-soluble. TMTD, a lipoid-soluble substance, is easily reduced to N-dimethyldithiocarbamate, a water-soluble fungicide. This may explain the fact that the fungicidal property of the chemically more stable TMTM is translocated in the VAN RAALTE test and not that of TMTD. The on a weight base much more important waterphase(s) in the potato petiole apparently form a considerable obstacle. After passing the probably continuous

[1]) Accepted for publication 18 July 1958.

[2]) Postal address: J. D. Meijerplein 3, Amsterdam.

lipoid phase of the petiole, fungicide molecules must pass a "water barrier", the nutrient agar, on their way to the conidia in the test. They must hence possess a certain minimum solubility in water besides a good lipoid solubility for the rapid transport through the petiole and a high activity to be discovered in the final high dilution at the agar surface.

That the potato petiole section in the above mentioned test has lost several vital functions, such as mass flow through the vascular system, respiration and protoplasmic streaming as a result of the cutting and subsequent depletion of substances like auxins and metabolic substrates may be considered as an advantage. This prevents fungicides being actively translocated or transported by mass flow through the petiole. The test may prove of value in the study of details of the translocation phenomenon, especially if more sensitive detection methods are applied.

SUMMARY

The suitability of the VAN RAALTE test for the study of the translocation of fungicides through the parenchym for mainly lipoid-soluble substances is discussed.

SAMENVATTING

De geschiktheid van de VAN RAALTE-proef voor de bestudering van het transport door het parenschym van fungiciden wordt besproken. Er wordt op gewezen, dat deze proef slechts resultaat oplevert wanneer de betrokken fungiciden goed in lipoïden en enigermate in water oplosbaar zijn. Men dient in het oog te houden, dat in de stukjes aardappelbladsteel, die in de proef worden gebruikt, vitale functies te loor gaan. Zo is er geen beweging van vloeistof in de vaatbundels, die verantwoordelijk kan worden gesteld voor transport van fungiciden door het stukje bladsteel.

REFERENCES

ARISZ, W. H., – 1952. Transport of organic compounds, Ann. Rev. Pl. Physiol 3:109–130.

HONERT, T. H. VAN DEN, – 1932. On the mechanism of the transport of organic materials in plants. Proc. Kon. Akad. Wetenschap. Amsterdam 35:1104–1112.

RAALTE, M. H. VAN – 1952. A test for the translocation of fungicides through plant tissues. C.R. IIIe Congr. int. Phytopharm., Paris:76–78.

RAALTE, M. H. VAN, A. KAARS SIJPESTEYN, G. J. M. VAN DER KERK, A. J. P. OORT & C. W. PLUYGERS, – 1955. Investigations on plant chemotherapy. Meded. Landbouwhogeschool Gent 20:543–555.

RICE, E. L. & L. M. ROHRBACH, – 1953. Effect of kerosene on movement of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and some derivatives through destarched bean plants in darkness. Bot. Gaz. 115:76–81.

RICE, E. L. & L. M. ROHRBACH, – 1955. Effect of temperature on the immobisation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in bean leafs in darkness. Bot. Gaz. 116:261–266.

SCHUMACHER, W., – 1947. Zur Frage nach den Stoffbewegungen im Pflanzenkörper. Naturwiss. 34:176–179.

SCHUMACHER, W. & M. HÜLSBRUCH, – 1955. Zur Frage der Bewegung fluorescierender Farbstoffe im Pflanzenkörper. Planta 45:118–124.

STRUGGER, S., – 1949. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2e Aufl. Berlin.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 335–336

DE VECTOREN VAN HET BLOEMVERGROENINGSVIRUS VAN KLAVER[1])

With a summary: The vectors of the virus causing phyllody (virescence) in clover flowers

DOOR

H. H. EVENHUIS

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Bloemvergroeningsverschijnselen zijn al minstens sedert de vorige eeuw uit West-Europa bekend (BOS, 1957). Door FRAZIER & POSNETTE (1956) is voor het eerst aangetoond, dat deze verschijnselen kunnen worden veroorzaakt door een virus, dat door cicaden wordt overgebracht. In 1957 vermeldden de beide genoemde auteurs, dat het bewuste virus kan worden gesplitst in twee componenten, die in verwekte symptomen verschillen, doch niet in de manier van overbrengen. De scheiding in twee componenten is ons tot op heden nog niet gelukt; daarom zullen we hier blijven spreken van één virus en wel van het bloemvergroeningsvirus.

Dit virus blijkt allerminst specifiek te zijn voor één bepaalde plantesoort; FRAZIER & POSNETTE (1956, 1957) en EVENHUIS (1957) vermelden een groot aantal waardplanten, die tot zeer verschillende families behoren. Er blijken eveneens verschillende vectoren te bestaan. FRAZIER & POSNETTE (1956, 1957) vermelden *Euscelis lineolatus* BRULLÉ, *E. plebejus* (FALL.) en *Macrosteles viridigriseus* (EDWARDS) als zodanig, BOVEY (1957) en EVENHUIS (1957) ook nog *Aphrodes bicinctus* (SCHRANK).

In 1957 werden nog enkele overbrengingsproeven met verschillende andere soorten cicaden verricht. Zo werd met *Philaenus spumarius* (L.) en *Agallia consobrina* (CURT.), die beide polyfaag zijn, een groot aantal proeven opgezet; in geen enkel geval werd echter overbrenging van het virus verkregen. Wel bleek het virus te kunnen worden overgebracht door *Aphrodes albifrons* (L.) (in twee gevallen) en *Macrosteles cristatus* (RIBAUT) (in één geval). Dat er slechts weinig gevallen van overbrenging met deze beide soorten werden verkregen, is het gevolg van het nog geringe aantal proeven, dat met deze soorten werd uitgevoerd. Bovendien bedraagt de duur van de latente periode van het virus in het insekt in de proeven in de warme kas meestal zes tot zeven weken en is het vaak moeilijk – vooral bij de tere soorten – om de dieren zo lang in leven te houden. De kans is groot, dat bij verder onderzoek zal blijken, dat nog meer soorten cicaden het bloemvergroeningsvirus kunnen overbrengen; vooral in de geslachten *Macrosteles* en *Aphrodes* is deze kans groot. Op het ogenblik zijn er dus zes verschillende vectoren van het virus bekend.

Niet alle vectoren zijn even effectief, zo blijkt *Aphrodes bicinctus* een veel minder effectieve overbrenger te zijn dan *Euscelis plebejus* en *E. lineolatus*. Trouwens ook alle waardplanten zijn niet even geschikt; zo gelukte de overbrenging van het virus op klaver (witte, rode en inkarnaatklaver) veel beter dan op aster.

[1]) Aangenomen voor publikatie 20 mei 1958.

SUMMARY

In literature the leafhopper species *Euscelis plebejus* (FALL.), *E. lineolatus* BRULLÉ, *Macrosteles viridigriseus* (EDWARDS) and *Aphrodes bicinctus* (SCHRANK) are mentioned as vectors of the virus causing phyllody in clover and other flowers. It was also found that *Macrosteles cristatus* (RIBAUT) and *Aphrodes albifrons* (L.) are able to transmit the virus. It seems probable that more vectors of the virus exist. However in many experiments with *Philaenus spumarius* (L.) and *Agallia consobrina* (CURT.) no transmission of the virus was obtained.

LITERATUUR

BOS, L., – 1957. Plant teratology and plant pathology. T. Pl.ziekten 63:222–231.

BOVEY, R., – 1957. Une anomalie des fleurs du trèfle causé par un virus transmis par des cicadelles. Rev. rom. Agric. Vitic. Arboric. 13:106–108..

EVENHUIS, H. H., – 1958. Investigations on a leafhopper-borne clover virus. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1957: 251–254.

FRAZIER, N. W. & A. F. POSNETTE, – 1956. Leafhopper transmission of a clover virus causing green petal disease in strawberry. Nature 177:1040–1041.

FRAZIER, N. W. & A. F. POSNETTE, – 1957. Transmission and host-range studies of strawberry green-petal virus. Ann. appl. Biol. 45:580–588.

VERSLAG VAN DE VOORDRACHT

GEHOUDEN DOOR IR. P. HUS OP DE JAARVERGADERING VAN 17 APRIL 1958 TE UTRECHT

De taak van de consulenten voor planteziekten.

De opdracht van de consulenten voor planteziekten is: het bevorderen van de ziektenbestrijding in land- en tuinbouw. Zij dienen er voor te zorgen, dat de Voorlichtingsdiensten (consulenten met een ambtsgebied plus hun assistenten) in staat zijn aan de telers de adviezen betreffende deze bestrijding te geven. Om hun taak naar behoren te kunnen vervullen moeten de ambtenaren van deze Diensten een voldoende kennis bezitten van:

a. de ziekten en plagen, welke in de gewassen kunnen optreden;
b. de bestrijdingsmiddelen, welke aangewend kunnen worden;
c. de wijze en de geschikte tijdstippen, waarop die middelen gebruikt moeten worden;
d. de gevaren, welke aan het gebruik zijn verbonden.

Door cursussen, voordrachten en maandelijkse Mededelingen worden de resultaten van het onderzoek, dat zowel in ons land als in het buitenland wordt verricht, en de ervaringen welke bij de bestrijding worden opgedaan, bekend gemaakt. Op deze wijze wordt de nodige kennis bijgebracht en op peil gehouden.

De consulenten voor planteziekten onderhouden een nauw contact met de Plantenziektenkundige Dienst, het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, het Laboratorium voor Phytopathologie en het Laboratorium voor Entomologie. Deze instellingen kunnen beschouwd worden als de voorlichters voor de Voorlichtingsdiensten.

Het contact werkt in twee richtingen. Enerzijds wordt bevorderd, dat de resultaten van het onderzoek zo spoedig mogelijk ter kennis worden gebracht van de Voorlichtingsdiensten; anderzijds wordt de aandacht van de onderzoekers gevestigd op de problemen welke zich bij de bestrijding in de praktijk voordoen. Uit enkele voorbeelden zal de samenwerking tussen de Tuinbouwvoorlichtingsdienst en de andere instellingen blijken.

Voor de bestrijding van de schurftziekte bij appel en peer is het voor de fruittelers belangrijk te weten, wanneer de ascosporenperiode begint en eindigt. Ook is het gewenst, dat zij van de infectiekansen tijdens deze periode kennis krijgen. De ascosporenperiode wordt door de P.D. vastgesteld. Waarnemingen omtrent de bladnatperiode, verricht door assistenten en P.D. ambtenaren, leveren de gegevens om de infectiekansen te bepalen. De P.D. geeft waarschuwingen via de radio, waarbij het K.N.M.I. zijn medewerking verleent. De consulenten verstrekken regionale waarschuwingen door middel van briefkaarten. Hieraan werken verschillende organisaties van fruitkwekers mede.

Bij de bestrijding van dierlijke beschadigers kan de vraag gesteld worden of een combinatie van chemische en biologische bestrijding (de zg. Pickettmethode) in ons land mogelijk is. In overleg met Prof. DE WILDE (Laboratorium voor Entomologie) en in samenwerking met de P.D. zal dit worden nagegaan. In een geschikte boomgaard wordt de mate van aantasting door enkele insekten vastgesteld. Verder wordt de populatiedichtheid van de predatoren bepaald. Daarna zullen in deze boomgaard de resultaten van een uitsluitend chemische en van de combinatie chemische en biologische bestrijding worden nagegaan.

In samenwerking met het I.P.O. zal in enkele gevallen (o.a. het aucubabont bij appels) worden nagegaan of een directe bestrijding van virusziekten mogelijk is. Voor beproeving komen in aanmerking een warmtebehandeling en een behandeling met chemische stoffen (b.v. purinen in navolging van Amerika) van de enten.

Gedurende een aantal jaren wordt onder leiding van Prof. OORT (Laboratorium voor Phytopathologie) en in samenwerking met het I.B.V.T. gezocht naar de bestrijding van de *Gloeosporium*ziekte bij appels.

M. KLINKOWSKI. Pflanzliche Virologie. I. Einführung in die allgemeinen Probleme. X en 279 blz., 103 fig., 16 tabellen. Akademie-Verlag, Berlin, 1958. Prijs DM 33.–.

In slechts enkele decennia heeft de plantevirologie zich als een zelfstandige wetenschap uit de planteziektenkunde ontwikkeld. Dit is zeer zeker voor een belangrijk deel het gevolg van de grote ontwikkeling die allerlei hulpwetenschappen, zoals biochemie, fysische chemie en fysica doormaakten, waardoor steeds meer methoden beschikbaar kwamen om het wezen van de virussen en van de virusziekten met meer vrucht te bestuderen. Maar ook is de grote groei van de plantevirologie belangrijk gestimuleerd door het toenemende besef, dat virusziekten in land- en tuinbouw dikwijls een bedreiging voor een rendabele teelt vormen.

Het hier te bespreken boek nu geeft een fraai beeld van onze kennis van de leer der plantevirussen. Het is niet geschreven in de vorm van een handboek, zoals b.v. het bekende werk van BAWDEN, waarin een veelheid van literatuurgegevens met verwijzing naar de bronnen bijeen is gebracht. In tegenstelling hiermee is het boek van KLINKOWSKI geschreven als een lopend verhaal, waarin slechts sporadisch namen van virusonderzoekers worden aangehaald. Het is veeleer te beschouwen als een leerboek, dat niet alleen door studenten, doch ook door leraren aan land- en tuinbouwscholen en door belangstellenden uit de voorlichtingsdiensten met plezier zal worden geraadpleegd. Er is een lijst van handboeken opgenomen, waarin de lezer eventueel de bronnen voor nadere studie van bepaalde onderwerpen kan vinden.

Zoals zovele andere biologische wetenschappen kan de plantevirologie in een algemeen en een bijzonder deel worden onderscheiden. Het onderhavige boek houdt zich bezig met de algemene problemen. In een tweede deel, welks verschijning in het vooruitzicht wordt gesteld, zullen de virusziekten van uiteenlopende, in Europa geteelde gewassen, worden behandeld.

De samensteller van het werk heeft zich van de medewerking van een aantal specialisten kunnen verzekeren. Hij schreef zelf een inleiding en een hoofdstuk over de bestrijding van plantevirussen. H. A. USCHDRAWEIT verzorgde hoofdstukken over de leer der ziekteverschijnselen en over de relaties tussen virus en waardplant. K. SCHMELZER wijdde enige hoofdstukken, respectievelijk aan overdracht van virussen door middel van enting, sap, contact, zaad, grond en *Cuscuta*-soorten en aan methoden van diagnostiek. J. VOLK ging in op de insekten, die virussen overdragen en op de relaties, die tussen net virus en zijn vector bestaan. De fysische en chemische eigenschappen van plantevirussen en de methoden van het virusonderzoek, dat hierop is gericht, werden besproken door O. BODE en H. WOLFFGANG. BODE behandelt tevens de morfologie der virussen en in een ander hoofdstuk het voorkomen van virusstammen en het optreden van mutaties. Serologische methoden van virusonderzoek werden door R. BERCKS besproken. G. BAUMANN zette de verschillende systemen van virusclassificatie en naamgeving uiteen.

Extra aandacht verdient de handleiding voor een virologisch practicum, die als aanhangsel is toegevoegd. Deze is bewerkt door CH. SCHADE. Er worden allerlei aardige proefjes in besproken, waarvan het goede resultaat bij voorbaat is gegarandeerd. Verscheidene van deze proefjes zijn naar de mening van de recensent ook bijzonder geschikt om te worden gebruikt voor demonstraties bij lessen over planteziektenkunde in het land- en tuinbouwonderwijs.

Het boek is op mooi papier gedrukt; de figuren zijn zeer goed. Het geheel maakt een zeer verzorgde indruk.

Eén opmerking dient nog te worden gemaakt, nl. over het gebruik van het woord „Prämunität". Deze term werd door QUANJER ingevoerd en dient om het verschijnsel aan te duiden, dat een plant die reeds besmet is met een virus niet opnieuw kan worden geïnfecteerd met een verwante stam van dit virus. Deze term is door de Duitse virologen overgenomen. Enige tijd geleden maakte Prof. Dr. L. C. P. KERLING recensent opmerkzaam op het feit, dat de term „premuniteit" taalkundig onjuist is en vervangen dient te worden door „premunitie". Naar aanleiding hiervan zou de term in het Duits dus eigenlijk „Prämunition" moeten luiden.

V. D. W.

F. G. W. JONES. Sugar beet pests. Bulletin 162, Ministry of Agriculture. Her Majesty's Stationery Office, London, 1957. 63 blz. met 16 afb. Prijs 6s. 6d.

Deze uitgave verdient ook buiten Engeland onder de aandacht der toepassende entomologen in land- en tuinbouw te worden gebracht. Het boekje bevat meer dan de titel aangeeft, daar het niet alleen de plagen beschrijft van de cultuurplanten, die afstammen van *Beta vulgaris* L., dus

van alle bietesoorten, maar ook van spinazie. Vooraf wordt in vijf bladzijden een gids gegeven, met behulp waarvan men aan de symptomen de aard van de insektenplaag kan herkennen. De hierbij geplaatste pentekeningen zijn helaas niet alle even geslaagd. Uitvoerig wordt daarna ingegaan op de plagen der jonge planten, waarbij de originele aanpak van de problemen opvalt. Zeer instructief is de afbeelding (blz. 11, fig. 3) van de mate van schade, bepaald door de vermindering der opbrengst aan wortels, die het gevolg is van ontbladering in het stadium, dat de plant vier tot acht bladeren heeft: wegnemen van driekwart van het bladoppervlak geeft in dit stadium slechts 10% opbrengstverlies. Interessant is ook de wijze, waarop even later het verband tussen de hoeveelheid uitvallers en de opbrengst uiteengezet wordt (blz. 21).

Men kan veel wetenswaardigs in dit boekje vinden, zoals het aantal ritnaalden per acre, dat een oogstmislukking kan veroorzaken, en de chemische bestrijding van de bietevlieg, waarbij dipterex als eerste wordt genoemd en parathion op de vijfde plaats komt. Er worden fraaie afbeeldingen gegeven, waaronder vele gekleurde.

Bij de bespreking van de plagen van het grote gewas, wordt aandacht geschonken aan de bladluizen als virus-vectoren en aan het voorspellen van bladluisvluchten, terwijl een ruime plaats wordt ingeruimd voor de cystenaaltjes. Men kan er vinden, welke populatie van aaltjes nodig is om oogstverliezen te veroorzaken, welke waardplanten het bietecystenaaltje heeft en wat het resultaat is van vruchtwisseling met diverse gewassen. Ook het wortelknobbelaaltje en de stengelaaltjes komen ter sprake, terwijl een bespreking van enige meer sporadisch optredende plagen het geschrift besluit.

Natuurlijk kan dit boekje niet zonder meer dienen als handleiding voor de bestrijding van de plagen der suikerbieten in Nederland. Onze problemen zijn niet gelijk te stellen aan die van de Engelse landbouwers.

P. A. VAN DER LAAN

Dr. HEINRICH PAPE. Leitfaden des Pflanzenschutzes im Zierpflanzenbau. 132 blz., 47 afb. Paul Parey, Berlin, 1958. Prijs DM 9.80.

Dit boekje, dat bedoeld is als leiddraad voor kwekers van sierteeltgewassen en dat een inzicht wil geven in de problemen van planteziekten en hun bestrijding, beantwoordt aan het doel, dat de schrijver zich voor ogen heeft gesteld. Terecht verwijst hij naar het uitgebreide handboek, wanneer men meer gedetailleerde gegevens wenst of wanneer een specialist op dit gebied nadere bijzonderheden wil opslaan.

In de eerste twee hoofdstukken worden de oorzaken van planteziekten en -beschadigingen bij sierteeltgewassen behandeld, waarbij de nadruk wordt gelegd op de juiste cultuurmaatregelen ter voorkoming van ziekten en plagen. Uitvoerig wordt de bestrijding met chemische middelen behandeld. Aanwijzingen worden gegeven voor ontsmetting van gereedschappen, grond, gietwater, zaad- en plantgoed. Voor het ontsmetten van anjerstekken raadt de auteur een dompeling aan van 10 minuten in een 1% oplossing van kaliumpermanganaat tegen de bacterie *Pseudomonas caryophylli*. Vermoedelijk zal in de praktijk de veroorzaker van de bacterieverwelkingsziekte bij anjers de door HELLMERS beschreven *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* zijn. Naar Nederlandse opvattingen is een natontsmetting van stekken niet aan te bevelen. De schrijver wijst elders ook op het aanschaffen van getoetste stekken. Het tweede hoofdstuk eindigt met een algemeen overzicht van de meest bekende en moderne anorganische en organische fungiciden en insecticiden.

Het derde hoofdstuk is in twee delen verdeeld. Het eerste gedeelte geeft de voornaamste en meest voorkomende ziekten, veroorzaakt door bacteriën, schimmels, virussen en insekten. Ook ziektebeelden ten gevolge van niet-parasitaire oorzaken worden beschreven. In het tweede gedeelte worden de belangrijkste ziekten en plagen van de verschillende gewassen in alfabetische volgorde besproken. Bij ieder gewas wordt de hiervoor meest geschikte pH aangegeven.

Door de beknoptheid van het boekje wordt de beschrijving van bladvlekken- of verwelkingsziekten soms zeer globaal, terwijl de verschillende parasieten in één adem genoemd worden. Het typerende ziektebeeld veroorzaakt door één van deze parasieten komt op deze wijze niet tot uiting. Voor de praktikus is dit mankement niet hinderlijk. Het zij nog opgemerkt, dat bij de roos het Amerikaans zwart (*Mycosphaerella rosigena*) niet vermeld staat, evenmin als de gebreksverschijnselen (Mn en Fe). Bij *Pelargonium* wordt de verwelkingsziekte nog niet genoemd.

De tekst is voorzien van vele foto's en tekeningen, terwijl het geheel keurig is verzorgd. Het boekje zal in Duitssprekende tuinbouwgebieden zeker de weg naar de kweker vinden. De Nederlandse kwekers en assistenten van de Voorlichtingsdienst kan het gebruik van dit boekwerk naast de Tuinbouwgids worden aanbevolen.

P. C. KOEK

Dr. H. C. Bels-Koning & Drs. P. J. Bels – Champignoncultuur. Uitgave Proefstation voor de Champignoncultuur, Horst (Limburg), 1958. 295 blz. met 94 afb. Prijs f 25,—.

Dit in de Nederlandse taal geschreven handboek zal ongetwijfeld door de champignonkwekers met vreugde worden ontvangen, omdat hierin alle, voor de kwekers belangrijke punten, op overzichtelijke en begrijpelijke wijze worden behandeld. Naast hoofdstukken die de gehele teelt omvatten, is een zeer uitgebreid hoofdstuk „ziekten en plagen" opgenomen. In een beknopte maar overzichtelijke tabel, die in drie groepen is ingedeeld, worden de afwijkingen, die tijdens de cultuur kunnen optreden beschreven. Met behulp van deze tabel zullen de kwekers op eenvoudige wijze de in hun kweekruimten voorkomende afwijkingen kunnen determineren. Daarna kunnen zij dan nagaan wat men er tegen kan doen.

Enkele veel voorkomende ziekten en plagen worden uitvoeriger behandeld, waarbij het herkennen van een afwijking door een groot aantal goede afbeeldingen wordt vergemakkelijkt.

In het hoofdstuk: Cultuurzorgen, worden de kwekers nader ingelicht over de werking en toepassing van een aantal bestrijdingsmiddelen.

T.